

ПЛОВДИВСКИ УНИВЕРСИТЕТ „ПАИСИЙ ХИЛЕНДАРСКИ”

ХИМИЧЕСКИ ФАКУЛТЕТ

КАТЕДРА „ХИМИЧНА ТЕХНОЛОГИЯ”

Теменужка Николаева Манчева

***„Изследвания върху състава на биологичноактивните
компоненти на гроздово масло и възможностите за
неговото стабилизиране“***

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

**на дисертация
за присъждане на образователна и научна степен „доктор“**

Област на висше образование: *4. Природни науки, математика и информатика*; Професионално направление: *4.2. Химически науки*;
Докторска програма: *„Технология на животинските и растителните мазнини, сапуните, етеричните масла и парфюмерийно-козметичните препарати“*

Научен ръководител:

проф. д-р Магдален Златанов

Официални рецензенти:

проф. д-р Марияна Перифанова-Немска

доц. д-р Гинка Антова

Пловдив

2016

Дисертационният труд е обсъден и приет на Разширен катедрен съвет на катедра „Химична технология“ при ПУ „Паисий Хилендарски“ (протокол №100 от 26.04.2016 г.)

Дисертацията съдържа 168 страници и включва 36 таблици и 31 фигури. Библиографската справка обхваща 291 литературни източника: 9 на кирилица и 282 на латиница.

Защитата на дисертационния труд ще се проведе на 5.07.2016 г., от 13.30 ч в зала „Компас“ на ПУ „Паисий Хилендарски“.

Материалите по защитата са на разположение в Централната библиотека на ПУ „Паисий Хилендарски“.

НАУЧНО ЖУРИ:

Проф. д-тн Албена Стоянова

Проф. д-р Марияна Перифанова-Немска

Проф. д-р Магдален Златанов

Доц. д-р Костанца Павлова

Доц. д-р Гинка Антова

1. ВЪВЕДЕНИЕ

Плодовете на растенията от рода *Vitis* (грозде) спадат към семейство Лозови (*Vitaceae*). Представяват двуседелни растения, които наброяват около 600 вида, като само от Евроазиатската лоза *Vitis vinifera* има над 20 000 сорта, от които не повече от 200 имат промишлено значение.

Гроздето от векове е една от най-широко използваните селскостопански култури. То се използва, както за директна консумация, така и за производство на вино и други алкохолни напитки. Плодът се отличава с много високо съдържание на захар, на биологичноактивни вещества и органични киселини.

При винопроизводството се получават големи количества странични продукти (чепки, ципи, семена). От тях с най-голяма важност са гроздовите семена. Те представляват почти 15% от твърдите отпадъци, получени във винарните и дестилериите и могат да бъдат използвани за извличането на масло или за производството на екстракти от тях, като някои са одобрени за естествени хранителни добавки.

Гроздовото масло има бледо зеленикав цвят, няма мирис и вкусът му наподобява комбинация от грозде и ядки. Тези му качества го правят удобно за употреба в широк спектър от хранителни продукти. Характеризира се с високо съдържание на ненаситени мастни киселини, витамини, антиоксиданти и поради тази причина е предпочитана съставка за предпазване от редица заболявания, свързани с нервната и имунната, храносмилателната и сърдечно-съдовата система, зрението и кожата. От друга страна, наличието на висок процент полиненаситени мастни киселини (70 – 80%) е предпоставка за протичането на окислителни процеси в маслото, които са едни от най-важните фактори, влияещи върху срока му на годност. Окислението оказва отрицателно въздействие върху цвета, текстурата, мириса, вкуса и хранителните качества на продукта, което изисква неговото стабилизиране.

Всичко това прави актуален проблема за установяване състава на семената от плодовете на гроздето и по-специално този на глицеридното масло, извлечено от тях, както и на основните биологичноактивни компоненти (мастни киселини, фосфолипиди, стероли, токофероли). По-задълбоченото изследване на хранителната и биологична стойност на масло от гроздови семена ще даде възможност за оценка на приложението му като хранително масло и като компонент в хранителни, козметични и фармацевтични продукти, които изискват по-дългосрочно съхранение.

4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ ОТ ЛИТЕРАТУРНИЯ ОБЗОР

На база направената литературна справка върху общия химичен и липиден състав на гроздови семена, могат да се направят следните изводи:

1. В България при преработката на грозде за вино отпадат около 50 000 t странични продукти, като около 10 000 t от тях са семена. В тях се съдържа приблизително 10 – 20% масло. Те могат да се използват като суровина за добиване на около 1000 – 2000 t на година глицеридно масло.

2. В научната литература се открива основно информацията относно:
 - съдържание на масло, влага, протеини, минерални вещества, въглехидрати, мастни киселини, триацилглицероли, стероли и токофероли в семена на различни сортове грозде от чужд произход;
3. Не се открива или е сравнително оскъдна информацията относно:
 - общия химичен състав на семена от български сортове грозде (липиди, въглехидрати, протеини, минерални вещества);
 - общия липиден състав на семената (фосфолипиди, стероли, токофероли, триацилглицероли);
 - промените в общия химичен и липиден състав на семената по време на вегетация на плода;
 - промените, които настъпват в общия липиден състав на масло, получено от семена в процеса на ферментация;
 - промените в мастнокиселинния и токоферолов състав, оксидантната стабилност и пероксидното число по време на дългосрочно съхранение на масло от гроздови семена при определени условия, както и възможностите за увеличаване на стабилността му чрез използване на подходящи антиоксиданти.

Във връзка с гореизложеното, научен и приложен интерес представлява изследването химичния и липиден състав на семена от селектирани български сортове грозде и промените, които настъпват в липидите в процеса на вегетация и ферментация на плода, както и при съхранение на маслото, с оглед практическото приложение на семената като нов и алтернативен източник за добиване на растително масло с ценни биологически и потребителски качества.

5. ОСНОВНА ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

След направените заключения на база на литературния обзор е поставена **основната цел** на настоящия дисертационен труд, а именно: да се изследва състава на биологичноактивните компоненти на гроздово масло и възможностите за неговото стабилизиране, с оглед оценка на приложението му за хранителни цели и употребата му в хранителни, козметични и фармацевтични продукти.

За изпълнение на поставената цел е необходимо решаването на следните задачи:

1. Да се определи общият химичен състав на семената от четири български сорта грозде (*Болгар*, *Супер ран Болгар*, *Мавруд* и *Широка мелнишка лоза*) – съдържание на масло, влага, протеини, въглехидрати и минерални вещества;
2. Да се установи липидния състав на изследваните семена – мастни киселини, триацилглицеролова структура, фосфолипиди и неосапуняеми вещества (стероли и токофероли);
3. Да се проследят промените в химичния и липиден състав на семената в процеса на вегетация на плода;

4. Да се установят промените в химичния и липиден състав на семена от грозде в процеса на ферментация;
5. Да се потърсят възможности за стабилизиране на гроздово масло с подходящи антиоксиданти;
6. Да се определи оксидантната стабилност и промените в състава на глицеридното масло при дългосрочно съхранение.

6. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

6.1. Суровини

За провеждане на изследванията са използвани семена на плодовете от грозде и съответно екстрахираните от тях глицеридни масла от следните сортове:

- *Болгар* – традиционен бял десертен сорт, който се отглежда в цялата страна;
- *Супер ран Болгар* – бял десертен сорт грозде, който е селектиран в Института по лозарство и винарство – гр. Плевен чрез кръстосване на сортовете *Италия* и *Янтар*;
- *Мавруд* – винен сорт червено грозде от Асеновградски регион;
- *Широка мелнишка лоза* – винен сорт червено грозде, разпространен основно в района на гр. Петрич и гр. Сандански.

Плодовете от изследваните сортове грозде са от учебно-опитно поле на Аграрен университет, гр. Пловдив, Пловдивски регион, Факултет по лозаро-градинарство.

6.2. Реактиви

Всички използвани свидетели и реактиви са с необходимата чистота за анализ, предоставени от фирмите „Merck”, „Sigma” и „Reachim”.

6.3. Аналитични методи за определяне на общия химичен състав на семената

6.3.1. Определяне съдържанието на глицеридно масло

Методът се основава на извличане на маслото с помощта на органичен неполярен разтворител (хексан), последващото му отстраняване и тегловно определяне на маслото.

6.3.2. Определяне съдържанието на азот и общ протеин по метода на Келдал

Същността на метода се основава на количественото определяне съдържанието на амоняк, който се отделя при сернокиселата минерализация на пробата. На базата на количеството азот се изчислява съдържанието на общ протеин.

6.3.3. Определяне съдържанието на въглехидрати

Общото съдържание на въглехидрати е определено по разликата от общото съдържание на другите компоненти (100 – количеството на глицеридно масло, протеини, пепел и влага в %).

Неразтворимите въглехидрати са получени, като разлика от общото съдържание и разтворимите въглехидрати.

6.3.4. Определяне съдържанието на влага

Основава се на отделянето на влагата и летливите вещества от семената при нагриване до 100 – 105°C. Съдържанието им се изразява като процент загуба в масата на предварително претеглената проба.

6.3.5. Определяне съдържанието на пепел

Методът се основава на минерализиране на пробата при 600°C и последващото тегловно определяне на количеството пепел.

6.3.6. Определяне на минералния състав

Минералният състав е определен чрез атомно абсорбционна спектроскопия.

6.4. Аналитични методи за определяне на липидния състав на семената

6.4.1. Определяне индивидуалния мастнокиселинен състав на триацилглицеролите

Мастнокиселинният профил на триацилглицеролите е определен чрез газова хроматография, след предварително преестерифициране на маслената проба с метилираща смес (2% к. сярна киселина в абсолютен метанол).

6.4.2. Определяне на триацилглицероловата структура

Определянето на триацилглицероловата структура (ТАГ) е извършено чрез високоефективна течна хроматография с обрънати фази.

6.4.3. Определяне общото съдържание фосфолипиди в глицеридното масло

Основава се на спектрофотометричното определяне на общото съдържание на фосфор след минерализиране на маслото и преизчисляване на негова база съдържанието на фосфолипиди.

6.4.4. Определяне на индивидуалния фосфолипиден състав на маслото

Изолираните фосфолипиди се разделят посредством двупосочна тънкослойна хроматография. Количественото определяне на отделните ФЛ се извършва спектрофотометрично, след минерализирането им и цветна реакция с молибденов реактив.

6.4.5. Определяне индивидуалния мастнокиселинен състав на фосфолипидите

Методът се основава на изолиране на основните класове глицерофосфолипиди (ФХ, ФИ, ФЕА, ФК), получаването и идентифицирането на метиловите естери на мастните им киселини с помощта на газова хроматография.

6.4.6. Определяне съдържанието на неосапуняеми вещества

Глицеридното масло се осапунва и неосапуняемите вещества (НЕО) се екстрахират с неполярен разтворител.

6.4.7. Определяне на общото съдържание на стероли

Стеролите са определени спектрофотометрично при 597 nm, след изолирането им от останалите компоненти чрез ТСХ.

6.4.8. Определяне на индивидуалния стеролов състав

Определянето на индивидуалния качествен и количествен състав на стеролите се извършва чрез газова хроматография.

6.4.9. Определяне съотношението свободни : свързани стероли и мастнокиселинния състав на стероловите естери

Методът за определяне на свободни и свързани стероли се основава на разделянето на глицеридното масло на основните му компоненти (свободни и свързани стероли, висши мастни алкохоли, триглицериди и въглеводороди) чрез препаративна ТСХ и спектрофотометрично определяне на количеството и състава им.

Определянето на мастнокиселинния състав на стероловите естери се извършва чрез газова хроматография на изолираните мастни киселини.

6.5. Определяне на токофероловия състав

Качественият и количествен състав на токофероли в глицеридните масла е определен чрез високоефективна течно - течна хроматография с флуоресцентна детекция.

6.6. Аналитични методи за определяне на физикохимичните показатели на глицеридното масло

6.6.1. Определяне на пероксидно число

Пероксидното число е определено титриметрично, основан на реакция с йодоводородна киселина.

6.6.2. Определяне на киселинно число

Киселинното число е определено титриметрично.

6.6.3. Определяне оксидантната стабилност на глицеридното масло

За оценка на устойчивостта на мазнините спрямо окисление е използван ускореният метод "Rancimat". Той се основава на кондуктометричното определяне на летливите продукти от развалата на мазнините и автоматичното графично изписване на кинетичната крива.

6.7. Определяне стабилността на глицеридното масло след влагане на антиоксиданти

С цел повишаване оксидантната стабилност на изследваното гроздово масло се приготвят разтвори на подходящи антиоксиданти (АО), които се добавят директно към маслото в точно определена концентрация (от 0,01 до 0,2%).

6.8. Статистически анализ

Статистическият анализ е проведен чрез използване на статистическа функция на *Microsoft Office Excel*. Всички резултати са получени от три успоредни измервания, като за всеки един е определена средноаритметичната стойност, стандартното отклонение и доверителният интервал при ниво на значимост $\alpha=0,05$. Долната граница на откриваемост е 0,05%.

7. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

7.1. ИЗСЛЕДВАНЕ НА ОБЩИЯ ХИМИЧЕН И ЛИПИДЕН СЪСТАВ НА СЕМЕНА ОТ ГРОЗДЕ

7.1.1. Химичен състав на семена от грозде

Основните химични показатели на изследваните семена от грозде – съдържание на глицеридно масло, протеини, въглехидрати, влага и минерални вещества са представени в Таблица 1.

Таблица 1*

Общ химичен състав на изследваните семена от грозде

Показатели, %	Сорт грозде			
	<i>Болгар</i>	<i>Супер ран Болгар</i>	<i>Мавруд</i>	<i>Широка мелнишка лоза</i>
Масленост	11,6 ± 0,2	16,5 ± 0,7	15,7 ± 0,5	13,9 ± 0,3
Протеини	6,9 ± 0,3	6,3 ± 0,1	8,9 ± 0,4	8,9 ± 0,4
Въглехидрати	70,9 ± 2,1	68,2 ± 1,4	65,5 ± 2,0	68,2 ± 2,7
-неразтворими	67,3 ± 2,7	63,1 ± 1,9	59,2 ± 1,2	64,0 ± 2,6
-разтворими	3,6 ± 0,1	5,1 ± 0,2	6,3 ± 0,3	4,2 ± 0,2
Влага	8,2 ± 0,2	6,5 ± 0,3	7,8 ± 0,3	6,2 ± 0,2
Минерални вещества	2,4 ± 0,1	2,5 ± 0,1	2,1 ± 0,1	2,8 ± 0,1

* Номерата на таблиците и фигурите съответстват на тези от дисертацията

След направения сравнителен анализ на семената от два бели и два червени сорта грозде е установено, че има незначителни различия в общия им химичен състав.

Изследваните гроздови семена съдържат значително по-ниски количества глицеридно масло в сравнение с други маслодайни семена, като слънчоглед, лен и др. Най-високо съдържание е установено в семената от сорт *Супер ран Болгар* (16,5%), а най-ниско в сорт *Болгар* (11,6%), докато останалите два червени сорта са от един порядък (15,7% за *Мавруд* и 13,9% за сорт *Широка мелнишка лоза*). Семената на червените винени сортове (*Мавруд* и *Широка мелнишка лоза*) съдържат по-високо количество протеини (8,9%) в сравнение със семената на белите сортове (6,3% и 6,9%). За всички изследвани сортове, количеството въглехидрати варира в сравнително тесни граници (65,5 – 70,9%). Основната част от тях са неразтворими (59,2 – 67,3%), като по-високо съдържание се открива в семената от сорт *Болгар*. Съдържанието на влага варира между 6,2% и 8,2%. Съдържанието на минерални вещества в отделните сортове семена варира в много близки граници от 2,1% до 2,8%.

Индивидуалният състав на разтворимите въглехидрати в изследваните семена е представен в Таблица 2.

Таблица 2

Индивидуален състав на разтворимите въглехидрати в семената

Въглехидрати, %	Сорт грозде			
	<i>Болгар</i>	<i>Супер ран Болгар</i>	<i>Мавруд</i>	<i>Широка мелнишка лоза</i>
Монозахариди	24,3 ± 1,0	13,5 ± 0,5	42,2 ± 1,7	21,1 ± 0,4
Фруктоза	16,2 ± 0,5	33,9 ± 1,0	18,7 ± 0,6	20,1 ± 0,6
Глюкоза	40,6 ± 1,6	43,5 ± 0,9	44,4 ± 1,8	38,2 ± 1,5
Галактоза	39,2 ± 1,6	17,6 ± 0,7	30,9 ± 1,2	27,4 ± 1,4
Ксилоза	2,4 ± 0,1	1,9 ± 0,1	2,7 ± 0,1	3,5 ± 0,1
Рамноза	1,2 ± 0,1	3,1 ± 0,1	2,8 ± 0,1	10,8 ± 0,3
Арабиноза	0,4 ± 0,02	-	0,5 ± 0,02	-
Дизахариди	56,5 ± 2,3	70,2 ± 2,8	47,7 ± 1,4	72,6 ± 2,9
Захароза	8,4 ± 0,3	4,9 ± 0,2	5,4 ± 1,6	7,8 ± 0,4
Малтоза	3,7 ± 0,1	3,0 ± 0,1	2,3 ± 0,1	3,6 ± 0,1
Изо-малтоза	87,9 ± 3,5	82,1 ± 3,3	91,5 ± 2,7	85,6 ± 2,6
Други дизахариди	-*	10,0 ± 0,2	0,8 ± 0,02	3,0 ± 0,2
Тризахариди	19,2 ± 0,8	16,3 ± 0,7	10,1 ± 0,4	6,3 ± 0,3

*- не са идентифицирани

Във фракцията на разтворимите въглехидрати, основна част заемат дизахаридите (47,7 – 72,6%). Най-високо съдържание от тях се наблюдава в семената от сорт *Супер ран Болгар* (70,2%) и *Широка мелнишка лоза* (72,6%). От монозахаридите, с най-високо количество се отличава сорт *Мавруд* (42,2%), а с най-ниско сорт - *Супер ран Болгар* (13,5%), докато при останалите два сорта съдържанието им е от един порядък (24,3% за *Болгар* и 21,1% за *Широка мелнишка лоза*). Глюкоза, галактоза и фруктоза са преобладаващите компоненти във всички монозахаридни фракции, докато основната съставка в дизахаридите е изо-малтоза (над 82,1%). Най-малък е процентът на тризахаридите, като е установено, че количеството им в белите сортове е значително по-високо, съответно 19,2% и 16,3%.

Получените данни за минералния състав на изследваните семена от различните сортове грозде са представени в Таблица 3.

Елементният състав на изследваните семена варира, като с високо съдържание е К (486,5 – 801,3 mg/kg), с изключение на семената от сорт *Болгар*, където е установено значително по-ниско съдържание (369,4 mg/kg). Прави впечатление, че съдържанието на този елемент в червените сортове е близо 2 пъти по-високо, отколкото при белите (369,4 mg/kg и 486,5 mg/kg, съответно срещу 801,3 mg/kg и 722,3 mg/kg). Наблюдава се също и високо съдържание на Na (495,5 – 707,1 mg/kg). Прави впечатление и сравнително ниското съдържание на Ca (5,0 – 7,4 mg/kg).

Таблица 3

Минерален състав на гроздови семена

Съдържание на метали, mg/kg	Сорт грозде			
	<i>Болгар</i>	<i>Супер ран Болгар</i>	<i>Мавруд</i>	<i>Широка мелнишка лоза</i>
Натрий	619,9 ± 18,6	495,5 ± 14,9	707,1 ± 14,1	624,1 ± 12,5
Калий	369,4 ± 7,4	486,5 ± 9,7	801,3 ± 16,0	722,3 ± 14,4
Калций	7,4 ± 0,1	5,0 ± 0,2	5,0 ± 0,2	6,1 ± 0,2
Магнезий	14,3 ± 0,6	18,3 ± 0,4	14,3 ± 0,6	16,3 ± 0,5
Желязо	35,4 ± 1,1	22,6 ± 0,9	37,0 ± 0,7	29,3 ± 0,9
Манган	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,2 ± 0,02
Мед	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,04	1,7 ± 0,1	1,8 ± 0,1
Цинк	30,4 ± 1,2	24,1 ± 0,7	32,3 ± 1,3	29,7 ± 1,2

От микроелементите най-голямо е количеството на Fe и Zn. Различното съдържание на метали в семената би могло да се обясни с различния произход и сортова принадлежност на гроздето, както и от състава на почвите в различните географски региони.

7.1.2. Липиден състав на глицеридното масло

7.1.2.1. Съдържание на биологичноактивни компоненти в маслото

В Таблица 4 са представени данните за съдържанието на биологичноактивни компоненти в гроздовото масло.

Таблица 4

Съдържание на биологичноактивни компоненти в масло от гроздови семена

Биологичноактивни компоненти	Сорт грозде			
	<i>Болгар</i>	<i>Супер ран Болгар</i>	<i>Мавруд</i>	<i>Широка мелнишка лоза</i>
Фосфолипиди, %	0,8 ± 0,03	0,6 ± 0,02	0,9 ± 0,04	0,9 ± 0,04
Стероли, %	0,4 ± 0,02	0,3 ± 0,01	0,3 ± 0,01	0,3 ± 0,01
Токофероли, mg/kg	270 ± 5	68 ± 3	156 ± 5	291 ± 6

Съдържанието на фосфолипиди е приблизително еднакво, както на белите (0,6-0,8%), така и на червените (0,9%) сортове грозде и е близко до това в други растителни масла (слънчогледово, рапично и др.).

Количеството на стероли в изследваните масла е от един порядък (0,3% - 0,4%). Най-високо съдържание на токофероли е установено в маслото от гроздови семена от сорт *Болгар* и *Широка мелнишка лоза* (270 mg/kg и 291 mg/kg), докато съдържанието им в маслото от сорт *Супер ран Болгар* е приблизително 4 пъти по-ниско (68 mg/kg).

7.1.2.2. Маснокиселинен състав

На Таблица 5 са представени резултатите, получени от изследването на маснокиселинния състав на глицеридните масла.

Таблица 5

Маснокиселинен състав на триацилглицеролите в гроздово масло

Масни киселини, %	Сорт грозде			
	<i>Болгар</i>	<i>Супер ран Болгар</i>	<i>Мавруд</i>	<i>Широка мелнишка лоза</i>
Лауринова (C _{12:0})	0,4 ± 0,02	-	0,4 ± 0,01	-
Миристинова (C _{14:0})	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
Миристолеинова (C _{14:1})	-	-	-	0,1 ± 0,0
Пентадеканова (C _{15:0})	-*	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	-
Палмитинова (C _{16:0})	11,5 ± 0,2	8,8 ± 0,3	8,8 ± 0,4	10,0 ± 0,3
Палмитолеинова (C _{16:1})	0,2 ± 0,01	0,1 ± 0,01	0,2 ± 0,01	0,3 ± 0,01
Маргаринова (C _{17:0})	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,01	0,1 ± 0,01
Стеаринова (C _{18:0})	1,0 ± 0,03	0,8 ± 0,03	1,0 ± 0,04	0,7 ± 0,03
Олеинова (C _{18:1})	17,6 ± 0,7	17,3 ± 0,4	18,7 ± 0,7	16,3 ± 0,7
Линолова (C _{18:2})	68,5 ± 1,4	72,2 ± 2,9	70,1 ± 2,1	71,3 ± 2,9
Линоленова (C _{18:3})	0,3 ± 0,01	-	0,2 ± 0,01	0,5 ± 0,02
Арахинова (C _{20:0})	0,2 ± 0,01	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,01
Гадолеинова (C _{20:1})	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	0,3 ± 0,01
Бехенова (C _{22:0})	-	0,3 ± 0,01	0,1 ± 0,01	0,1 ± 0,0

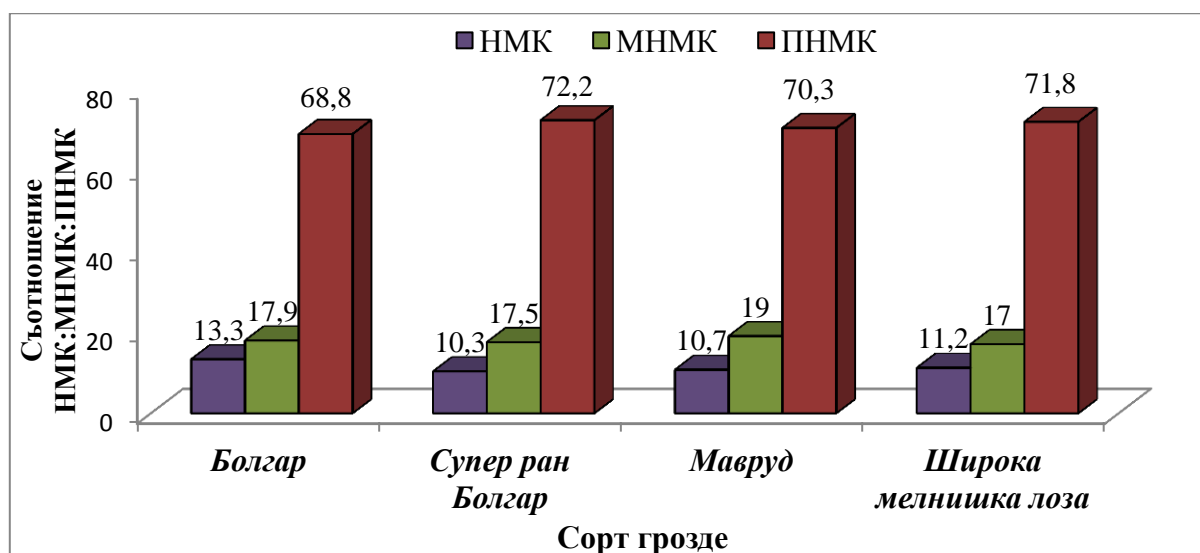
*- не са идентифицирани

В глицеридните масла са идентифицирани 14 мастни киселини. Маснокиселинният състав на четирите масла е сходен, без значение дали е бял или червен сорт грозде. Основният компонент, който преобладава в триацилглицеролите, е линоловата киселина (68,5 – 72,2%), следвана от олеиновата (16,3 – 18,7%) и палмитиновата (8,8 – 11,5%). Получените стойности за стеаринова киселина са в границите от 0,7% до 1,0%.

В гроздовите масла са открити и други мастни киселини, но в незначителни количества. Съдържанието на линоленова киселина е от 0,2% до 0,5%. Маснокиселинният състав на масло от гроздови семена е сходен с този на традиционно използвани растителни масла, каквото е слънчогледовото, при което основните киселини също са линолова (68,2%) и олеинова (18,6%).

Съотношение на наситени (НМК), моно- (МНМК) и полиненаситени мастни (ПНМК) киселини в гроздовото масло

В гроздовото масло преобладават ПНМК със съдържание от 68,8% до 72,2%. Тези стойности са близо 6 пъти по-високи от тези на НМК (10,3 - 13,3%) и 4 пъти по-високи от МНМК (17,0 - 19,0%) (Фигура 14).



Фигура 14. Съотношение наситени (НМК): мононенаситени (МНМК): полиненаситени (ПНМК) мастни киселини в гроздово масло

7.1.2.3. Триацилглицеролова структура

Съставът на триацилглицероловата (ТАГ) структура е представен в Таблица 6.

Таблица 6

Триацилглицеролова структура на гроздово масло

ТАГ, %	Сорт грозде			
	<i>Болгар</i>	<i>Супер ран Болгар</i>	<i>Мавруд</i>	<i>Широка мелнишка лоза</i>
LLL	48,7 ± 1,5	40,4 ± 1,6	43,6 ± 1,7	57,0 ± 2,3
LLO	18,5 ± 0,7	23,3 ± 0,9	23,2 ± 0,5	16,4 ± 0,7
LLP	11,4 ± 0,5	15,4 ± 0,6	8,4 ± 0,3	10,1 ± 0,4
LOO	3,4 ± 0,1	3,8 ± 0,2	5,2 ± 0,2	2,6 ± 0,1
LOP	6,3 ± 0,2	6,7 ± 0,3	5,8 ± 0,1	4,5 ± 0,1
LLS	4,3 ± 0,2	4,6 ± 0,1	4,7 ± 0,1	3,2 ± 0,1
OOO	2,2 ± 0,1	1,7 ± 0,1	3,0 ± 0,1	2,0 ± 0,1
OOP	2,7 ± 0,1	2,3 ± 0,1	3,4 ± 0,2	2,1 ± 0,04
LOS	2,5 ± 0,1	1,8 ± 0,1	2,7 ± 0,1	2,1 ± 0,04

Идентифицирани са 9 триацилглицеролови структури, като основният компонент е линоловата киселина. И в четирите сорта преобладава LLL. Най-високо е неговото съдържание в *Широка мелнишка лоза* (57,0%).

Значителни количества на LLO е установено в маслото от *Супер ран Болгар* и *Мавруд* – съответно 23,3% и 23,2%, за сметка на по-ниските нива на LLL в *Супер ран Болгар*, и на LLP в *Мавруд*. Останалите шест триацилглицеролови структури – LOO, LOP, LLS, OOO, OOP, LOS са представени в незначителни количества (1,7% до 6,7%).

7.1.2.4. Фосфолипиден състав

7.1.2.4.1. Индивидуален фосфолипиден състав

Индивидуалният състав на фосфолипидната фракция е представен в Таблица 7.

Таблица 7

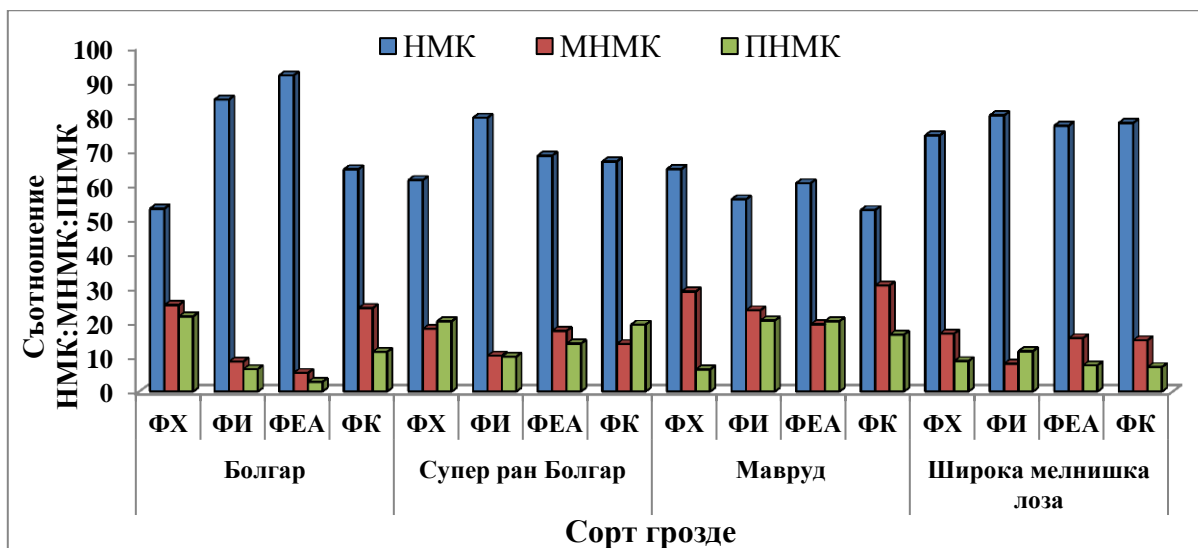
Индивидуален фосфолипиден състав на масло от гроздови семена

Фосфолипиди, %	Сорт грозде			
	Болгар	Супер ран Болгар	Мавруд	Широка мелнишка лоза
Фосфатидилхолин	16,0 ± 0,5	16,4 ± 0,5	23,8 ± 1,0	16,2 ± 0,6
Фосфатидилинозитол	28,0 ± 0,6	49,1 ± 2,0	33,9 ± 1,4	32,2 ± 1,0
Фосфатидилетаноламин	17,3 ± 0,7	13,1 ± 0,5	12,2 ± 0,4	10,3 ± 0,4
Фосфатидни киселини	25,3 ± 0,5	8,2 ± 0,4	14,1 ± 0,6	30,2 ± 1,2
Фосфатидилсерин	2,7 ± 0,1	2,6 ± 0,1	1,8 ± 0,1	2,1 ± 0,1
Сфингомиелин	2,2 ± 0,1	0,9 ± 0,02	2,5 ± 0,1	2,3 ± 0,1
Лизофосфатидилхолин	1,6 ± 0,1	3,2 ± 0,1	4,2 ± 0,2	1,0 ± 0,04
Лизофосфатидилетаноламин	1,4 ± 0,1	3,4 ± 0,1	2,6 ± 0,1	1,0 ± 0,03
Монофосфатидилглицерол	2,8 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,2 ± 0,1	2,4 ± 0,1
Дифосфатидилглицерол	2,7 ± 0,1	2,0 ± 0,3	3,7 ± 0,1	2,3 ± 0,1

Фосфолипидната фракция включва всички основни класове фосфолипиди, характерни за растителните масла. Основният компонент е фосфатидилинозитолът (ФИ) (28,0 – 49,1%), следван от фосфатидните киселини (ФК) (8,2 – 30,2%), фосфатидилхолина (ФХ) (16,0 – 23,8%) и фосфатидилетаноламина (ФЕА) (10,3 – 17,3%). Качественият състав на четирите изследвани масла е близък, но са установени значителни различия в количествения им профил. Най-високо съдържание на ФИ е намерено в маслото на сорт *Супер ран Болгар* (49,1%) за сметка на по-ниското количество на ФК, докато в останалите масла нивото на основния компонент – ФИ е в рамките от 28,0% до 32,2%. Съдържанието на ФХ и ФЕА варира в по-тесни граници. За разлика от други растителни масла, гроздовото се отличава с необичайно високо количество на ФК. Този факт вероятно е в резултат на протекли хидролизни процеси или недовършени етапи от фосфолипидния биосинтез в глицеридното масло. От получените резултати прави впечатление и относително високото ниво на сфингомиелин (0,9 – 2,5%), чието количество в други масла е значително по-ниско.

Съотношение на наситени, моно- и полиненаситени мастни киселини в основните класове фосфолипиди

Получените резултати за съотношението НМК:МНМК:ПНМК на индивидуалните фосфолипидни класове са показани на Фигура 15.



Фигура 15. Съотношение наситени (НМК): мононенаситени (МНМК): полиненаситени (ПНМК) мастни киселини в основните класове фосфолипиди

От фигурата се вижда, че във фосфолипидната фракция на маслото преобладават НМК. Не може да се определи обща тенденция в нарастването на киселините между основните фосфолипидни класове. Най-високо съдържание на наситени киселини е установено във фосфатидилетаноламина на сорт *Болгар*, а най-ниско във фосфатидните киселини на сорт *Мавруд*. Забелязва се една и съща тенденция в нарастването на мононенаситените мастни киселини в маслото от два от изследваните сорта – *Супер ран Болгар* и *Широка мелнишка лоза* в посока ФХ > ФЕА > ФК > ФИ. В останалите два сорта *Болгар* и *Мавруд*, съотношението е ФХ (25,1%) > ФК (24,2%) > ФИ (8,7%) > ФЕА (5,4%) – за сорт *Болгар* и ФК (30,8%) > ФХ (29,0%) > ФИ (23,6%) > ФЕА (19,5%) – за сорт *Мавруд*. Най-високо количество на ПНМК в маслото от бяло грозде е установено във ФХ, докато при двата сорта червено грозде във ФИ. Маслото от гроздови семена с най-ниско съдържание на киселини, с повече от една двойна връзка, е от сорт *Широка мелнишка лоза* (от 7,1% до 11,7%).

Сравнявайки мастнокиселинния състав на триацилглицеролите с този на фосфолипидите може да се установят съществени различия. ПНМК (68,8 – 72,2%) преобладават във фракцията на триацилглицеролите, докато при фосфолипидите преобладават НМК (52,7 – 91,8%).

7.1.2.5. Стеролев състав

7.1.2.5.2. Индивидуален състав на свободните и свързаните стероли

Установено е, че качественият и количественият стеролов състав на маслата, изолирани от изследваните сортове грозде, е еднакъв (*виж Табл. 10*). Основният компонент, който преобладава със сравнително близки количества и в двете стеролови фракции е β -ситостерол. Най-ниско е съдържанието му в свободната форма (66,8%) на сорт *Широка мелнишка лоза*, а най-високо – в стероловите естери (73,2%) на същия сорт, докато във фракциите на останалите три сорта количеството му е приблизително еднакво (70,2 – 72,8%).

Таблица 10

Индивидуален състав на свободни и свързани стероли в гроздово масло

Стероли	Сорт грозде							
	<i>Болгар</i>		<i>Супер ран Болгар</i>		<i>Мавруд</i>		<i>Широка мелнишка лоза</i>	
	свободни	свързани	свободни	свързани	свободни	свързани	свободни	свързани
Холестерол	0,5 ± 0,01	1,6 ± 0,05	0,6 ± 0,02	2,0 ± 0,1	0,5 ± 0,02	1,3 ± 0,04	0,7 ± 0,01	1,9 ± 0,04
Брасикастерол	2,6 ± 0,1	1,8 ± 0,1	2,6 ± 0,1	1,5 ± 0,1	2,4 ± 0,1	1,4 ± 0,04	1,8 ± 0,1	1,9 ± 0,1
Кампестерол	20,5 ± 0,4	11,7 ± 0,2	19,1 ± 0,8	7,1 ± 0,1	20,0 ± 0,4	14,0 ± 0,6	24,5 ± 0,7	12,2 ± 0,5
Стигмастерол	3,2 ± 0,1	6,7 ± 0,3	3,3 ± 0,1	6,0 ± 0,1	3,3 ± 0,2	6,9 ± 0,1	2,7 ± 0,1	3,2 ± 0,1
Δ^7 -Кампестерол	1,3 ± 0,1	2,4 ± 0,05	1,0 ± 0,02	2,9 ± 0,1	1,7 ± 0,1	2,4 ± 0,1	1,7 ± 0,04	2,7 ± 0,1
β -Ситостерол	70,2 ± 1,4	70,5 ± 2,9	72,1 ± 1,4	72,8 ± 2,2	70,4 ± 1,4	70,9 ± 2,1	66,8 ± 1,3	73,2 ± 2,2
Δ^5 -Авенастерол	0,4 ± 0,01	1,5 ± 0,1	0,4 ± 0,02	1,5 ± 0,03	0,5 ± 0,01	1,4 ± 0,1	0,4 ± 0,02	2,0 ± 0,1
Δ^7 -Авенастерол	0,8 ± 0,02	1,4 ± 0,04	0,6 ± 0,02	2,3 ± 0,1	0,6 ± 0,02	0,8 ± 0,02	0,5 ± 0,02	1,2 ± 0,04
Δ^7 -Стигмастерол	0,5 ± 0,02	2,4 ± 0,05	0,3 ± 0,01	3,9 ± 0,1	0,6 ± 0,01	0,9 ± 0,02	0,9 ± 0,02	1,7 ± 0,1

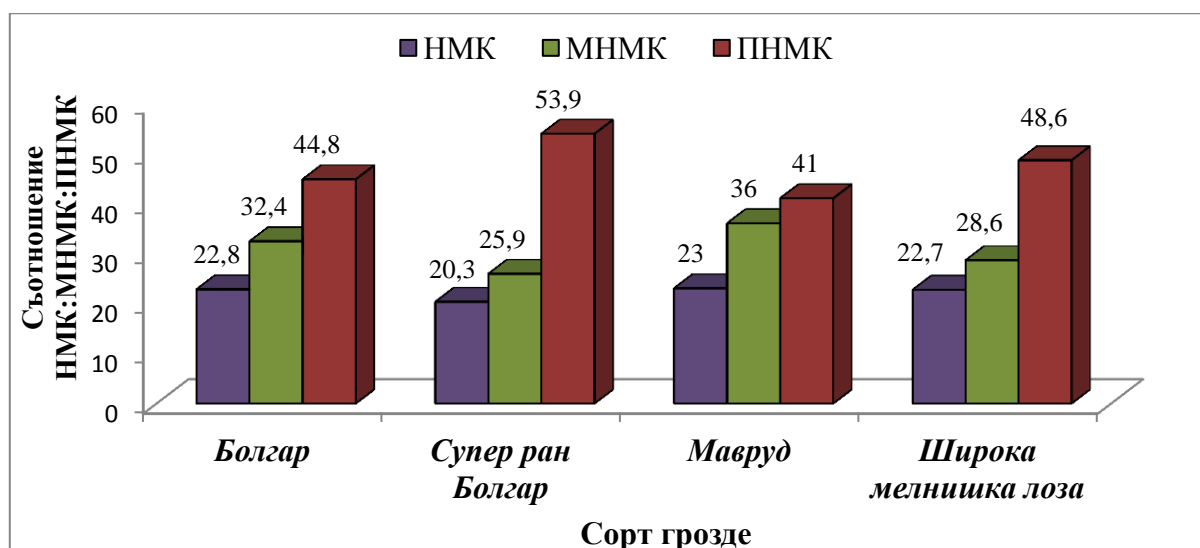
Двете стеролови фракции се характеризират с относително високо съдържание на кампестерол (7,1 – 24,5%). Прави впечатление, че стойността на кампестерол в свободна форма е от 19,1% до 24,5%, което е около 2 пъти по-високо, отколкото в стероловите естери (7,1 – 14,0%). Обратното съотношение се наблюдава за количеството на стигмастерол, което е приблизително 2 пъти по-ниско в свободните стероли (2,7 – 3,3%) за разлика от естерифицираните (3,2 – 6,9%). Съдържанието на стигмастерол в българските сортове грозде варира от 2,7% до 6,9%.

По отношение съдържанието на холестерол, също са установени съществени различия. При стероловите естери, неговото количество е значително по-високо, отколкото в свободната форма. Тези различия между съотношението на свободните и свързаните стероли са в резултат от една страна на различните етапи на биосинтез на двете фракции, а от друга - на различните етапи на биосинтез на самия холестерол. Наличието на по-високо съдържание на холестерол в стероловите естери се дължи на няколко причини: (1) стероловите естери са първите, които се биосинтезират и (2) холестеролът се биосинтезира първи в стероловата фракция и след това се използва като междинно съединение за синтеза на другите стероли.

В гроздовото масло от български сортове са идентифицирани и брасикастерол, Δ^7 -кампестерол Δ^5 -авенастерол, Δ^7 -авенастерол, Δ^7 -стигмастерол, които присъстват в незначителни количества.

Съотношение между наситени, моно- и полиненаситени мастни киселини в състава на стероловите естери

В стероловите естери на масло от гроздови семена преобладават ПНМК (41,0 – 53,9%) (Фигура 16).



Фигура 16. Съотношение между наситени, моно- и полиненаситен мастни киселини във фракцията на стероловите естери

Количеството на НМК е приблизително еднакво в маслата и в четирите сорта грозде (20,3 – 23,0%). При сортовете *Болгар* и *Мавруд* съотношението между НМК, МНМК и ПНМК също е близко.

Общото съдържание на НМК и МНМК в стероловите естери е по-високо, отколкото в триацилглицеролите, за сметка на ПНМК. От друга страна е установено, че количеството на наситени мастни киселини в свързаните стероли е значително по-ниско от това на фосфолипидите, в които съдържанието им е над 77,5%.

Тези различия също се дължат на различните етапи на биосинтез на триацилглицероли, стеролови естери и фосфолипиди. В първия етап се синтезират фосфолипидите, които се свързват основно с НМК, чието натрупване се извършва в същия етап. След това се синтезират стероловите естери, които се свързват с НМК и МНМК. В крайния етап на биосинтез се акумулират ПНМК, които се свързват в триацилглицероли.

7.1.2.6. Токоферолов състав

В Таблица 12 са представени данните за индивидуалния токоферолов състав на гроздово масло.

Качественият и количествен състав на всички изследвани масла е сходен. Основният компонент в токофероловата фракция е α -токоферол (74,8 – 84,4%). Най-високо е съдържанието му в маслото от сорт *Мавруд* (84,4%).

Таблица 12

Индивидуален токоферолов състав

Сорт грозде	Токофероли, %		
	α -токоферол	γ -токоферол	γ -токотриенол
<i>Болгар</i>	74,8 ± 1,5	14,0 ± 0,4	11,2 ± 0,4
<i>Супер ран Болгар</i>	76,7 ± 3,1	23,3 ± 0,9	-*
<i>Мавруд</i>	84,4 ± 3,4	15,6 ± 0,3	-
<i>Широка мелнишка лоза</i>	79,5 ± 2,4	20,5 ± 0,8	-

*- не са идентифицирани

В токофероловата фракция на гроздовото масло се съдържа и γ -токоферол (14,0 – 23,3%). В сортовете *Болгар* и *Мавруд* количеството му е по-ниско (14,0 – 15,6%), докато в другите два сорта *Супер ран Болгар* и *Широка мелнишка лоза* то е по-високо (20,5 – 23,3%).

Идентифицирано е и наличие на γ -токотриенол, единствено в маслото от сорт *Болгар* (11,2%).

Очевидно, сортовият състав и географският район оказват по-съществено влияние върху токофероловия състав, отколкото върху фосфолипидния и стеролов състав.

7.2. ИЗСЛЕДВАНЕ ПРОМЕНИТЕ В ХИМИЧНИЯ И ЛИПИДЕН СЪСТАВ НА СЕМЕНА ОТ ГРОЗДЕ В ПРОЦЕСА НА ВЕГЕТАЦИЯ

Информацията за промените в състава на маслото по време на вегетация дава възможност за прогнозиране на съдържанието на биологичноактивните компоненти в крайния състав.

Изследвани са измененията в общия химичен и липиден състав (мастнокиселинен, фосфолипиден, стеролов и токоферолов състав) на гроздови семена от сорт *Супер ран Болгар*. Тъй като той е единственият съвременен български сорт, получен при кръстосването на сортовете *Янтар* и *Италия*, се предполага, че би могъл да притежава по-интересен състав. Пробите са вземани на три етапа: 50^{-и}, 80^{-и} и 110^{-и} ден след цъфтеж (ДСЦ) през процеса на вегетация. Семената са ръчно отделени от зърната и изсушени при стайна температура.

7.2.1. Промени в химичния състав на гроздовите семена

Промените в съдържанието на основните химични компоненти на гроздовите семена са представени в Таблица 13.

Резултатите показват, че по време на вегетация на плода съдържанието на масло в семената рязко се увеличава от 0,7% по време на първата фаза на развитие на плода до 11,9% на 80^{-и} ДСЦ и в етапа на пълна зрялост (110^{-и} ДСЦ) тя достига 16,5%.

Таблица 13

Промени в химичния състав на гроздовите семена от сорт Супер ран Болгар по време на вегетация

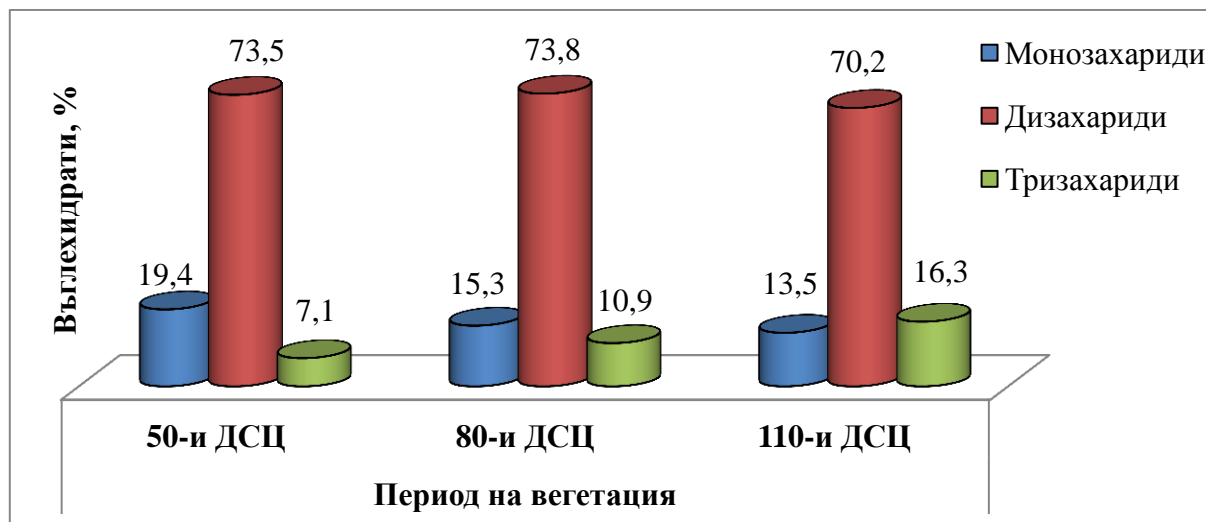
Компоненти, %	Период на вегетация		
	50 ^{-и} ДСЦ	80 ^{-и} ДСЦ	110 ^{-и} ДСЦ
Масло	0,7 ± 0,02	11,9 ± 0,4	16,5 ± 0,7
Протеини	11,7 ± 0,5	8,1 ± 0,3	6,3 ± 0,1
Въглехидрати	70,2 ± 2,1	69,3 ± 2,1	68,2 ± 2,7
- неразтворими	63,3 ± 1,9	63,0 ± 1,3	63,1 ± 1,9
- разтворими	6,9 ± 0,3	6,3 ± 0,3	5,1 ± 0,2
Влага	12,6 ± 0,5	7,4 ± 0,3	6,5 ± 0,3
Пепел	4,8 ± 0,1	3,3 ± 0,1	2,5 ± 0,1

Незначително намаляване се наблюдава в съдържанието на въглехидрати (от 70,2% до 68,2%).

Промените в съдържанието на въглехидрати, протеини, пепел и влага следват обратната тенденция – съдържанието им намалява постепенно през целия изследван период, обратно на масленото съдържание. Прави впечатление, че количеството им в сравнение с първия етап на развитие намалява почти два пъти (от 11,7% до 6,3% за протеини; от 4,8% до 2,5% за пепел и от 12,6% до 6,5% за влага).

7.2.1.1. Промени във въглехидратния състав

Количеството на неразтворимите въглехидрати остава практически непроменено (от 63,1% до 63,3%) (Табл. 13), за разлика от това на разтворимите, при които се наблюдава постепенно намаляване от 6,9% на 50^{-я} ДСЦ до 5,1% на 110^{-я} ДСЦ. Последните са представени основно от дизахариди (над 70%).



Фигура 17. Промени в съдържанието на водоразтворимите въглехидрати по време на вегетация

Монозахаридите също намаляват от 19,4% до 13,5%, като тази промяна е за сметка на увеличаване съдържанието на тризахаридната фракция от 7,1% през първия етап до 16,3% в края на третия етап.

Индивидуалният моно- и дизахариден състав, представен в Таблица 14, варира значително през целия период на вегетация.

Таблица 14

Промени в индивидуалния въглехидратен състав по време на вегетация

Въглехидрати, %	Период на вегетация		
	50 ^{-я} ДСЦ	80 ^{-я} ДСЦ	110 ^{-я} ДСЦ
Монозахариди			
Фруктоза	23,7 ± 0,9	29,7 ± 1,2	33,9 ± 1,4
Глюкоза	41,0 ± 1,2	39,3 ± 1,6	43,5 ± 1,7
Галактоза	32,7 ± 1,3	27,4 ± 1,1	17,6 ± 0,7
Ксилоза	0,9 ± 0,04	1,3 ± 0,1	1,9 ± 0,1
Рамноза	1,7 ± 0,1	2,3 ± 0,1	3,1 ± 0,1
Дизахариди			
Захароза	0,2 ± 0,01	2,2 ± 0,1	4,9 ± 0,2
Малтоза	-*	1,7 ± 0,1	3,0 ± 0,1
Изо-малтоза	55,9 ± 2,8	68,0 ± 2,7	82,1 ± 3,3
Други дизахариди	43,9 ± 1,3	28,1 ± 1,1	10,0 ± 0,4

*- не са идентифицирани

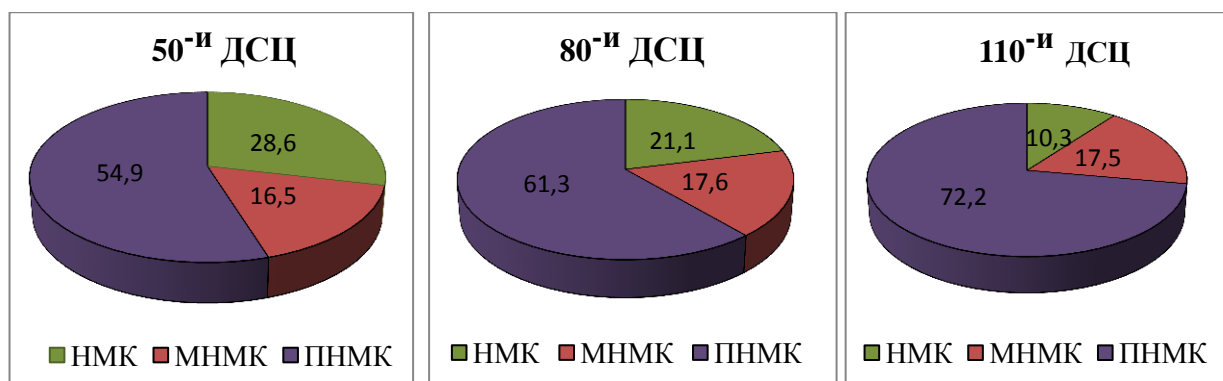
Монозахаридната фракция е представена основно от глюкоза, чието количество остава постоянно и през трите етапа. Съдържанието на фруктоза се увеличава от 23,7% в първия период, съответно до 29,7% през втория и в края нивото ѝ достига 33,9%. Това нарастване е за сметка на намаляване количеството на галактозата близо два пъти (от 32,7% до 17,6%). При останалите два компонента се забелязва незначително нарастване – от 0,9% до 1,8% за ксилозата и от 1,7% до 3,1% за рамнозата.

Във фракцията от дизахариди на гроздовите семена се наблюдава значително по-високо съдържание на изо-малтоза (82,1%), в третия етап на вегетация в сравнение с първия (55,9%). Увеличаване количеството на изо-малтоза е за сметка на по-ниските нива на другите дизахариди, чиито количества са около четири пъти по-ниски отколкото в първия период.

7.2.2. Промени в липидния състав на семена от грозде

7.2.2.1. Промени в съотношението между наситени, моно- и полиненаситени мастни киселини

Промените, които настъпват в съдържанието на НМК, МНМК и ПНМК са илюстрирани на Фигура 18.



Фигура 18. Промени в съотношението между наситени (НМК), моно- (МНМК) и полиненаситени мастни киселини (ПНМК) в гроздово масло по време на вегетация

Полиненаситените мастни киселини преобладават във фракцията на триацилглицеролите. Тяхното количество се увеличава значително по време на целия изследван период, за сметка на намаляване съдържанието на наситените мастни киселини. Не се наблюдава изменение в количеството на мононенаситените мастни киселини. Наличието на по-висок процент наситени мастни киселини в първия етап, в който маслото е от все още зелени плодове, може да се обясни със сложния биосинтез на глицеридното масло. Това се обяснява с факта, че по време на процеса на вегетация, преимуществено се синтезират наситените киселини, които се включват в ТАГ, като с напредване етапите на съзряване на семената, започва по-интензивния синтез на ненаситените мастни киселини.

7.2.2.2. Промени в биологичноактивните компоненти

7.2.2.2.1. Промени във фосфолипидния състав

В таблица 16 са представени промените в общия и индивидуалния състав на фосфолипидната фракция на масло от сорт *Супер ран Болгар*.

Таблица 16

Промени в общия и индивидуалния фосфолипиден състав по време вегетация

Фосфолипиди, %	Период на вегетация		
	50 ^{-я} ДСЦ	80 ^{-я} ДСЦ	110 ^{-я} ДСЦ
Фосфатидилхолин	6,6 ± 0,2	14,4 ± 0,3	16,4 ± 0,5
Фосфатидилинозитол	14,2 ± 0,6	32,9 ± 1,0	49,1 ± 2,0
Фосфатидилетаноламин	12,5 ± 0,3	14,7 ± 0,4	13,1 ± 0,5
Фосфатидни киселини	23,6 ± 0,9	13,8 ± 0,6	8,2 ± 0,4
Фосфатидилсерин	6,6 ± 0,1	2,5 ± 0,1	2,6 ± 0,1
Сфингомиелин	-*	-	0,9 ± 0,02
Лизофосфатидилхолин	19,8 ± 0,4	11,7 ± 0,4	3,2 ± 0,1
Лизофосфатидилетаноламин	3,8 ± 0,2	1,7 ± 0,1	3,4 ± 0,1
Монофосфатидилглицерол	3,5 ± 0,3	-	1,1 ± 0,1
Дифосфатидилглицерол	9,4 ± 0,2	8,3 ± 0,3	2,0 ± 0,3
Общо ФЛ, %	24,2 ± 0,7	1,5 ± 0,03	0,6 ± 0,02

*- не са идентифицирани

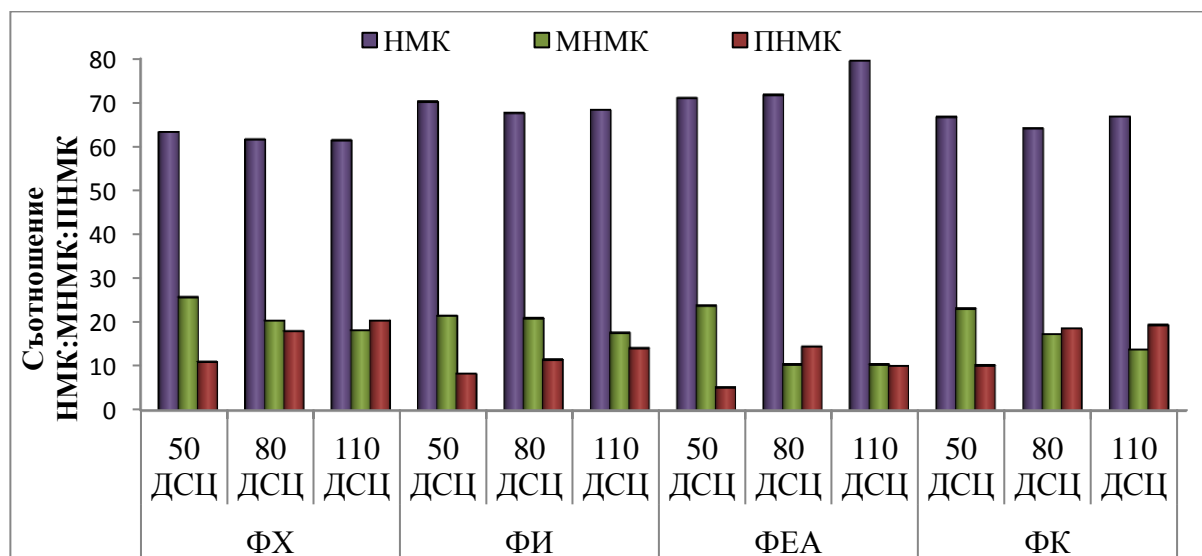
Общото съдържание на фосфолипиди рязко намалява от 24,2% в първия до 0,6% в третия етап. Тази изключително голяма разлика в съдържанието на фосфолипиди в началото и края на биосинтеза на плодовете е относителна и се обяснява с факта, че синтезът на тези биологичноактивни компоненти се извършва основно в началото на вегетацията на плода. Относителното намаляване количеството на фосфолипиди по време на процеса е в резултат от нарастване съдържанието на глицеридно масло (от 0,7% до 16,5%), чийто синтез се извършва главно във втория и третия етап (Таблица 13), докато биосинтезът на фосфолипиди вече е преустановен. По отношение на данните за индивидуалния фосфолипиден състав е очевидно, че в третия етап са идентифицирани всички фосфолипидни класове. Първи в етапа на биосинтез са фосфатидните киселини, които са прекурсори на фосфатидилинозитола, фосфатидилхолина и фосфатидилетаноламина. Нивото на фосфатидните киселини непрекъснато намалява и от 23,6% на 50-я ДСЦ, достига до 13,8% на 80-я и 8,2% на 110-я ДСЦ. В противовес на фосфатидните киселини, с напредване етапите на вегетация се увеличава количеството на фосфатидилинозитол и фосфатидилхолин (от 14,2% на 49,1% и от 6,6% до 16,4%), докато количеството на фосфатидилетаноламина остава непроменено. Установено е количество и на други фосфолипидни класове, но прави впечатление изключително високата стойност на лизоформата на холина на 50^{-я} ДСЦ (19,8%). Количеството му на 80^{-я} ДСЦ намалява до 11,7%, а в етапа на

пълна зрялост спада близо 4 пъти (3,2%). Високото ниво на лизофосфатидилхолин на 50-я ДСЦ би могло да се дължи на наличието на дъждове по време на този изследван период, които водят до по-високо водно съдържание в плода и семената, а от там до засилване на хидролизните процеси.

Промени в съотношението НМК:МНМК:ПНМК в основните класове фосфолипиди

На фигура 19 са представени промените в съотношението между НМК, МНМК и ПНМК в четирите основни класове фосфолипиди.

Най-високо е нивото на НМК, което остава приблизително еднакво по време на всички периоди, докато количеството на МНМК намалява (основно това на олеиновата), за сметка на увеличаване количеството на ПНМК (предимно това на линоловата). Най-високо съдържание на НМК е идентифицирано във ФЕА (71,0% за 50-я ДСЦ, 71,7% за 80-я ДСЦ и 79,5% за 110-я ДСЦ), последвано от ФИ, ФК и най-малко във ФХ.



Фигура 19. Съотношение НМК:МНМК:ПНМК в основните фосфолипидни класове по време на вегетация

7.2.2.2.2. Промени в стероловия състав

Данните за измененията в състава на свободните и свързани стероли на гроздово масло са посочени в Таблица 18.

Общото съдържание на стероли рязко намалява с напредване процесите на биосинтез на семената (от 2,7% до 0,3%). Това се обяснява с факта, че те се синтезират в началния етап, след което биосинтезът спира, а това от своя страна води до относителното намаляване на съдържанието им в нарастващото количество на маслото. Качественият състав на двете стеролови фракции е идентичен, но по отношение на количествения се забелязват известни различия.

Таблица 18

Промени в общия и индивидуален състав на свободните и свързаните стероли по време на вегетация

Стероли, %	Период на вегетация					
	50 ^{-я} ДСЦ		80 ^{-я} ДСЦ		110 ^{-я} ДСЦ	
	свободни	свързани	свободни	свързани	свободни	свързани
Холестерол	0,4 ± 0,02	2,1 ± 0,1	0,5 ± 0,01	3,2 ± 0,1	0,6 ± 0,02	2,0 ± 0,1
Брасикастерол	1,1 ± 0,03	4,7 ± 0,1	0,3 ± 0,01	2,0 ± 0,1	2,6 ± 0,1	1,5 ± 0,1
Кампестерол	5,3 ± 0,2	5,4 ± 0,2	9,9 ± 0,2	7,3 ± 0,1	19,1 ± 0,8	7,1 ± 0,1
Стигмастерол	3,3 ± 0,1	1,2 ± 0,02	4,7 ± 0,2	3,8 ± 0,2	3,3 ± 0,1	6,0 ± 0,1
Δ ⁷ -Кампестерол	1,8 ± 0,1	4,1 ± 0,1	3,5 ± 0,1	2,8 ± 0,1	1,0 ± 0,02	2,9 ± 0,1
β-Ситостерол	82,1 ± 3,3	74,0 ± 2,2	78,5 ± 2,4	73,2 ± 2,2	72,1 ± 1,4	72,8 ± 2,2
Δ ⁵ -Авенастерол	0,3 ± 0,01	1,8 ± 0,1	0,7 ± 0,02	4,6 ± 0,1	0,4 ± 0,02	1,5 ± 0,03
Δ ⁷ -Авенастерол	1,8 ± 0,04	4,2 ± 0,1	0,5 ± 0,02	2,0 ± 0,1	0,5 ± 0,02	2,3 ± 0,1
Δ ⁷ -Стигмастерол	3,9 ± 0,2	2,5 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,1 ± 0,04	0,4 ± 0,01	3,9 ± 0,1
Общо стероли	2,7 ± 0,1		0,2 ± 0,01		0,3 ± 0,01	

Основният им компонент е β-ситостерол (72,1 – 82,1%), чието съдържание в процеса на вегетация намалява, следван от кампестерол (5,3 – 19,1%) и стигмастерол (1,2 – 6,0%). Това се дължи на факта, че в началото на биосинтеза се синтезира по-наситения β-ситостерол, а след това по-ненаситения стигмастерол.

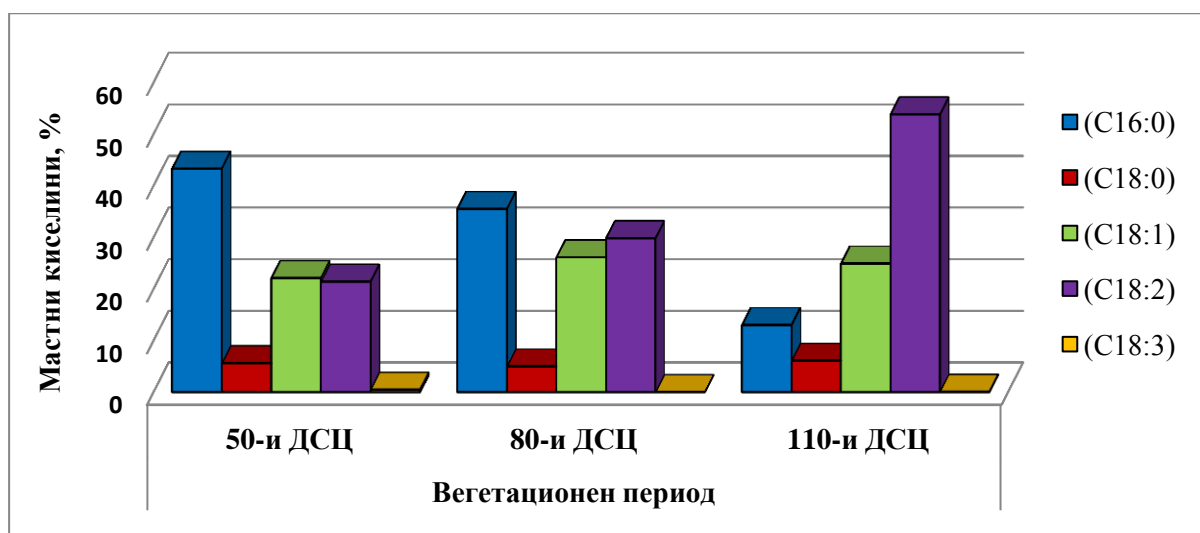
В процеса на пълна зрялост на семената, във фракцията от свободни стероли има по-високо количество кампестерол за сметка на по-ниското съдържание на β-ситостерол, Δ⁷-авенастерол и Δ⁷-стигмастерол. Количеството на холестерол е много ниско във всички изследвани проби от свободни стероли (под 0,6%).

Същите основни компоненти са открити и в стероловите естери. Съдържанието на кампестерол и стигмастерол на 110^{-я} ДСЦ се увеличава, докато това на брасикастерол, Δ⁷-кампестерол, β-ситостерол и Δ⁷-авенастерол намалява.

Промени в мастнокиселинния състав на свързаните стероли

Получените резултати за мастнокиселинния състав са представени на Фигура 20.

Качественият мастнокиселинен състав съвпада с този на фосфолипидите, но има разлики в количествено отношение. Докато количеството на палмитинова киселина рязко намалява по време на целия изследван период (от 43,3% до 13,1%), то това на линоловата киселина показва сравнително голямо увеличение от 21,4% на 50^{-я} ДСЦ до 53,8% на 110^{-я} ДСЦ. Олеиновата киселина в първия етап на процеса на вегетация е 22,1%, след което на втория достига



Фигура 20. Промени в мастнокиселинния състав на стероловите естери по време на вегетация

стойност 26,1%, а на третия етап се наблюдава незначително намаляване до 24,1%. Съдържанието на стеаринова киселина остава практически постоянно и през трите процеса на зреене.

Във всички мастнокиселинни фракции (триацилглицероли, фосфолипиди и стеролови естери) на маслото, изолирано от сорт *Супер ран Болгар* се наблюдава тенденция на покачване нивото на наситените мастни киселини за сметка на полиненаситените, докато стойностите на мононенаситените варират незначително. Тези промени се дължат на различните етапи в техния биосинтез.

7.2.2.2.3. Промени в токофероловия състав

Промените в общия и индивидуален токоферолов състав на гроздовото масло по време на вегетация на плода са показани в Таблица 19.

Таблица 19

Промени в общия и индивидуален токоферолов състав по време на вегетация

Токофероли, %	Период на вегетация		
	50 ^{-я} ДСЦ	80 ^{-я} ДСЦ	110 ^{-я} ДСЦ
α-токоферол	76,1 ± 2,3	82,9 ± 1,7	76,7 ± 3,1
β-токоферол	3,3 ± 0,1	-*	-
γ-токоферол	10,9 ± 0,2	5,9 ± 0,2	23,3 ± 0,9
γ-токотриенол	9,7 ± 0,2	11,2 ± 0,3	-
Общо токофероли, mg/kg	1728 ± 34,6	192 ± 5,8	68 ± 2,7

*- не са идентифицирани

Общото количество токофероли в изследваното масло значително намалява през целия период. На 50^{-я} ДСЦ маслото е с изключително високо съдържание на токофероли – 1728 mg/kg. След втория етап (80^{-я} ДСЦ), нивото им се понижава близо 9 пъти (192 mg/kg), като в крайния етап на процеса на вегетация тяхното количество е едва 68 mg/kg.

Съдържанието на α -токоферол варира многопосочно и през трите етапа на зреене. Количеството на γ -токоферол в началото е 10,9%, след което в края на процеса се увеличава почти двойно – 23,3%.

В ранния етап на вегетация е установено наличие на γ -токотриенол. Количеството му в началото е 9,7%, след което на 110-я ДСЦ се наблюдава незначително нарастване до 11,2% и в етапа на пълна зрялост вече не е идентифициран.

7.3. ИЗСЛЕДВАНЕ ПРОМЕНИТЕ В ОБЩИЯ ХИМИЧЕН И ЛИПИДЕН СЪСТАВ НА ГРОЗДОВИ СЕМЕНА В ПРОЦЕСА НА ФЕРМЕНТАЦИЯ

Изхождайки от факта, че гроздовите семена са продукт, отделящ се предимно в процеса на винопроизводство, важно е да се проследят промените, които настъпват в някои от показателите, определящи общия им химичен и липиден състав в процеса на ферментация. Използвани са семена от винен сорт *Мавруд*, тъй като е по-характерен за Пловдивския регион.

7.3.1. Промени в общия химичен състав

Получените резултати за настъпващите промени в състава на гроздовите семена на плодове от винен сорт *Мавруд* по време на ферментационния процес са представени в Таблица 20.

Таблица 20

Промени в общия химичен състав на гроздови семена от сорт Мавруд по време на ферментация

Показатели, %	Гроздови семена	
	преди ферментация	след ферментация
Масленост	15,7 ± 0,5	10,7 ± 0,2
Протеини	8,9 ± 0,4	9,6 ± 3,8
Въглехидрати	65,5 ± 2,0	67,8 ± 2,0
- неразтворими	59,2 ± 1,2	64,3 ± 2,6
- разтворими	6,3 ± 0,3	3,5 ± 0,1
Влага	7,8 ± 0,2	8,5 ± 0,2
Пепел	2,1 ± 0,1	3,4 ± 0,2

Съдържанието на масло в семената значително намалява от 15,7% до 10,7%, а се наблюдава леко нарастване на съдържанието на влага. Общото количество на въглехидрати, при това положение нараства относително за сметка главно на неразтворимата фракция, докато това на разтворимите намалява. При останалите компоненти също се наблюдава незначително увеличение.

Промени във въглехидратния състав

В Таблица 21 са представени измененията във водоразтворимите въглехидрати на гроздовите семена по време на ферментация.

Таблица 21

Промени в съдържанието на водоразтворими въглехидрати

Въглехидрати, %	Гроздови семена	
	преди ферментация	след ферментация
Монозахариди	42,2 ± 1,7	20,2 ± 0,8
Дизахариди	47,7 ± 1,4	69,7 ± 2,1
Тризахариди	10,1 ± 0,4	10,1 ± 0,03

Наблюдава се рязко намаление на монозахаридите – над 2 пъти за сметка на увеличаване съдържанието на дизахаридите. Количеството на тризахаридите остава постоянно. На практика, при ферментацията се разграждат всички захариди, но в най-голяма степен този процес е застъпен при монозахаридите, което води до относително нарастване на количеството дизахариди.

Промените в индивидуалния състав на водоразтворимите въглехидрати в процеса на ферментация са показани в Таблица 22.

Таблица 22

Промени в индивидуалния въглехидратен състав на семена от грозде

Въглехидрати, %	Гроздови семена	
	преди ферментация	след ферментация
Монозахариди, %		
Фруктоза	18,7 ± 0,6	18,8 ± 0,6
Глюкоза	44,4 ± 1,8	41,2 ± 1,2
Галактоза	30,9 ± 1,2	24,6 ± 0,7
Ксилоза	2,7 ± 0,1	5,5 ± 0,2
Рамноза	2,8 ± 0,1	9,5 ± 0,4
Арабиноза	0,5 ± 0,02	0,4 ± 0,02
Дизахариди, %		
Захароза	5,4 ± 1,6	7,7 ± 0,2
Малтоза	2,3 ± 0,1	2,0 ± 0,1
Изо-малтоза	91,5 ± 2,7	85,4 ± 2,6
Други	0,8 ± 0,02	4,9 ± 0,2

В монозахаридите преобладават три основни компонента – глюкоза, галактоза и фруктоза. Докато количеството на фруктозата и глюкозата остава практически непроменено вследствие на ферментационния процес, то това на галактозата намалява от 30,9% до 24,6%, за сметка на увеличаване съдържанието на рамноза. В гроздовите семена са идентифицирани и други водоразтворими монозахариди, чието количество се увеличава, с изключение това на арабинозата, при която същото остава непроменено. В дизахаридната фракция преобладава изо-малтозата, като нейното количество намалява за сметка на увеличаването на захарозата и другите дизахариди. Единствено нивото на малтозата остава постоянно по време на ферментационния процес.

На практика всички захариди се разграждат, но в различна степен и това води до относително нарастване съдържанието на някои компоненти.

Промени в минералния състав

Измененията в минералния състав по време на винификация на плодовете са представени в Таблица 23.

Таблица 23

Промени в елементния състав на семена от грозде по време на ферментация

Съдържание на метали, mg/kg	Гроздови семена	
	преди ферментация	след ферментация
Макроелементи		
Натрий	707,1 ± 14,1	552,0 ± 11,0
Калий	801,3 ± 16,0	530,6 ± 10,6
Калций	5,0 ± 0,2	-*
Магнезий	14,3 ± 0,6	11,6 ± 0,2
Микроелементи		
Желязо	37,0 ± 0,7	18,4 ± 0,6
Манган	1,3 ± 0,1	0,4 ± 0
Мед	1,7 ± 0,1	1,1 ± 0,03
Цинк	32,3 ± 1,3	32,0 ± 1,0

*- не са идентифицирани

Наблюдава се значително намаляване в общото съдържание на повечето метали, особено на двата макроелемента натрий и калий (от 707,1% до 552,0% и от 801,3% до 530,6%). Най-голямо понижаване се забелязва в съдържанието на желязо от 37,0% до 18,4%. Изключение прави цинкът, чието количество в семената остава непроменено. Наблюдаваните изменения в елементния състав на гроздовите семена биха могли да се дължат на тяхната екстракция от водноалкохолния разтвор и съответно преминаването им във виното.

7.3.2. Промени в общия липиден състав и физикохимичните показатели на маслото

7.3.2.1. Промени в съдържанието на биологичноактивни компоненти в маслото

Измененията в съдържанието на биологичноактивните компоненти в маслото, екстрахирано от гроздови семена в резултат на протичане на ферментационния процес са дадени в Таблица 24.

Таблица 24

Промени в биологичноактивните компоненти на глицеридното масло

Показатели	Глицеридно масло	
	преди ферментация	след ферментация
Фосфолипиди, %	0,9 ± 0,04	0,2 ± 0,01
Стероли, %	0,3 ± 0,01	0,2 ± 0,01
Токофероли, mg/kg	156 ± 11	101 ± 9

Съдържанието на всички биологичноактивни съединения значително намалява в процеса на ферментация. Особено рязка промяна се наблюдава в количеството на фосфолипидите, чието ниво намалява повече от 0,9% до 0,2%. Общото съдържание на токофероли също намалява значително, докато това на стеролите в маслото също намалява, но с много по-незначителни разлики. Промените се дължат на факта, че фосфолипидите се хидролизират, докато токоферолите, като нестабилни ненаситени съединения се разграждат.

7.3.2.2. Промени в основните физикохимични показатели на глицеридното масло

В резултат на ферментационния процес, киселинното число нараства незначително от 2,1 mgKOH/g до 2,4 mgKOH/g, което показва, че не са протекли хидролизни процеси. Пероксидното число намалява от 18,2 до 17,2 meqO₂/kg. Тъй като при алкохолната ферментация захарите се превръщат в етилов алкохол и въглероден диоксид, не се създават условия за протичането на окислителни процеси и в тази връзка не се забелязва значителна промяна в ПОЧ. От друга страна е възможно част от пероксидите да се разтворят в самото вино, което води до запазване нивото им в глицеридното масло.

Промени в мастнокиселинния състав на триацилглицеролите

Данните от изследването на измененията в състава на мастните киселини на гроздовото масло по време на ферментация са посочени в Таблица 25.

Таблица 25

Промени в мастнокиселинния състав на ТАГ по време на ферментация

Мастни киселини, %	Гроздово масло	
	преди ферментация	след ферментация
Лауринова (C _{12:0})	0,4 ± 0,01	0,1 ± 0,01
Миристинова (C _{14:0})	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
Миристолеинова (C _{14:1})	-*	0,1 ± 0,0
Пентадеканова (C _{15:0})	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0
Палмитинова (C _{16:0})	8,8 ± 0,4	9,3 ± 0,4
Палмитолеинова (C _{16:1})	0,2 ± 0,01	0,1 ± 0,01
Маргаринова (C _{17:0})	0,1 ± 0,01	0,1 ± 0,0
Стеаринова (C _{18:0})	1,0 ± 0,04	1,3 ± 0,1
Олеинова (C _{18:1})	18,7 ± 0,7	21,3 ± 1,1
Линолова (C _{18:2})	70,1 ± 2,1	66,8 ± 2,7
Линоленова (C _{18:3})	0,2 ± 0,01	0,2 ± 0,01
Арахинова (C _{20:0})	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,01
Гадолеинова (C _{20:1})	0,1 ± 0,01	0,1 ± 0,0
Бехенова (C _{22:0})	0,1 ± 0,0	0,2 ± 0,01
НМК	10,7	11,4
МНМК	19,0	21,6
ПНМК	70,3	67,0

*- не са идентифицирани

Съдържанието на олеинова киселина леко нараства в процеса на ферментация, за сметка на намаляването на линоловата киселина. Количеството на останалите мастни киселини остава непроменено или е в рамките на статистическата грешка. Съотношението НМК:МНМК на триацилглицеролите също се променя, макар и незначително, като се увеличава съдържанието на МНМК – от 19,0% преди ферментацията, до 21,6% след нейното протичане, за сметка намаляване това на ПНМК (от 70,3% до 67,0%).

Промени в триацилглицероловата структура на маслото

Резултатите относно промените в триацилглицероловата структура на глицеридното масло по време на ферментационния процес са показани в Таблица 26.

Основният компонент в мастнокиселинната фракция в структурите на триацилглицеролите в гроздовото масло, е линоловата киселина (L). В резултат на ферментационния процес се забелязва понижаване нивото на LLL.

Таблица 26

Промени в триацилглицероловата структура на гроздовото масло по време на ферментация

Триацилглицеролова структура, %	Гроздово масло	
	преди ферментация	след ферментация
LLL	43,6 ± 1,7	37,9 ± 1,5
LLO	23,2 ± 0,5	23,0 ± 0,9
LLP	8,4 ± 0,3	9,1 ± 0,4
LOO	5,2 ± 0,2	6,2 ± 0,2
LOP	5,8 ± 0,1	6,4 ± 0,2
LLS	4,7 ± 0,1	5,7 ± 0,2
OOO	3,0 ± 0,1	3,8 ± 0,2
OOP	3,4 ± 0,2	4,1 ± 0,2
LOS	2,7 ± 0,1	3,8 ± 0,2

В количеството на другият основен тип – линолеатлинолеатолеат (LLO) не се забелязва значителна промяна. Във всички останали класове триацилглицероли се отчита незначително увеличаване на съдържанието им с около 1,0%.

7.3.2.1. Промени във фосфолипидния състав на глицеридното масло

7.3.2.1.1. Промени в индивидуалния фосфолипиден състав

Резултатите от сравнителния анализ между индивидуалния фосфолипиден състав са представени в Таблица 27.

Преобладаващите класове във фосфолипидната фракция на гроздовото масло са ФХ и ФИ. Количеството на ФХ си остава неповлияно от ферментацията, за разлика от това на ФИ, което значително намалява от 33,9% в началото на процеса до 18,9%, за сметка на относителното увеличаване нивото на дифосфатидилглицерол (от 3,7% до 12,6%) и на лизофосфатидилетаноламин от 2,6% до 12,5%.

Таблица 27

Промени в индивидуалния фосфолипиден състав по време на ферментация

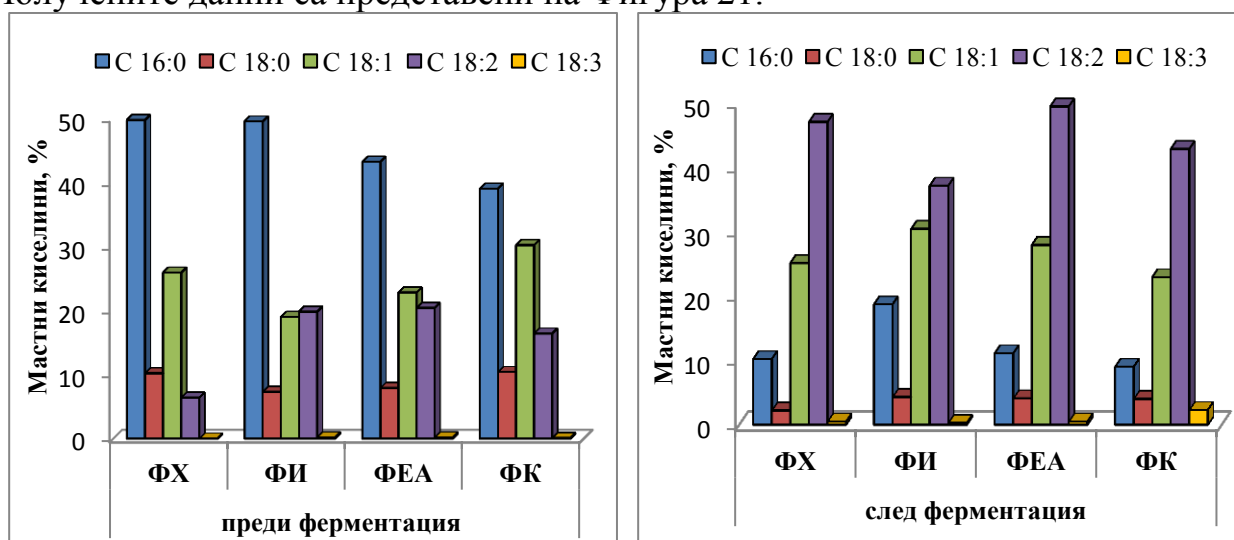
Фосфолипиди, %	Гроздово масло	
	преди ферментация	след ферментация
Фосфатидилхолин	23,8 ± 1,0	22,4 ± 0,4
Фосфатидилинозитол	33,9 ± 1,4	18,9 ± 0,4
Фосфатидилетаноламин	12,2 ± 0,4	13,3 ± 0,3
Фосфатидни киселини	14,1 ± 0,6	15,4 ± 0,6
Фосфатидилсерин	1,8 ± 0,1	-*
Сфингомиелин	2,5 ± 0,1	-
Лизофосфатидилхолин	4,2 ± 0,2	4,9 ± 0,1
Лизофосфатидилетаноламин	2,6 ± 0,1	12,5 ± 0,4
Дифосфатидилглицерол	3,7 ± 0,1	12,6 ± 0,4
Монофосфатидилглицерол	1,2 ± 0,1	-

*- не са идентифицирани

Правят впечатление и необичайно високите стойности на ФК, в сравнение с други растителни масла, като след ферментация се забелязва повишаване на количеството им от 14,1% до 15,4%. Това най-вероятно се дължи на протичането на хидролизни процеси. В маслото след ферментация не е установено наличие на фосфатидилсерин, сфингомиелин и монофосфатидилглицерол. Всички останали фосфолипиди остават практически непроменени след ферментация на гроздовите семена. На практика всички класове фосфолипиди се хидролизират, но в различна степен, което води до промяна в цялостната картина на фосфолипидната фракция.

7.3.2.1.2. Промени в мастнокиселинния състав на фосфолипидите

Освен промените в индивидуалния състав на фосфолипидите по време на ферментация, са проследени и измененията в мастнокиселинния им състав. Получените данни са представени на Фигура 21.

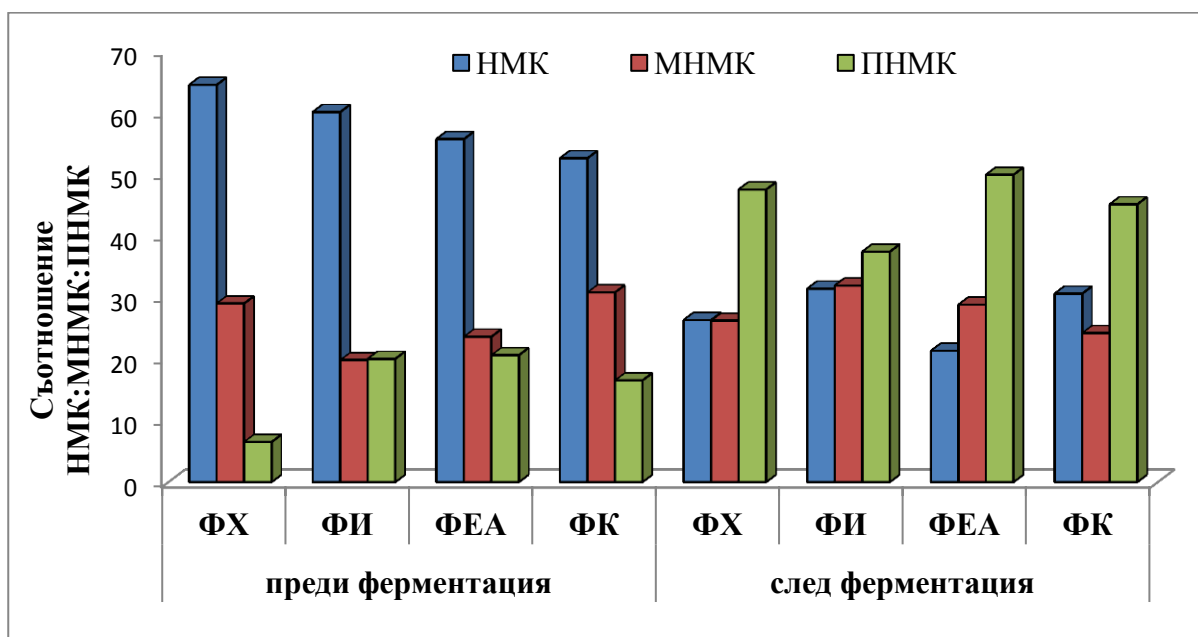


Фигура 21. Промени в мастнокиселинния състав на основните класове фосфолипиди по време на ферментация

Установено е, че качественият състав е един и същ, за разлика от количествения, при който се забелязват съществени различия. Количеството на палмитинова и стеаринова киселина след ферментацията значително намалява във всички фосфолипидни класове, за сметка на увеличението на полиненаситената линолова киселина (от 6,4 – 20,4% до 37,1 – 49,4%).

Нивото на олеинова киселина остава постоянно, с изключение на фосфатидилинозитола, където нейното количество се увеличава (от 19,0% до 30,4%, съответно). Тези данни показват, че ферментацията води до десатурация и деградация на наситените мастни киселини, като процесите протичат както с различна скорост, така и разнопосочно.

На Фигура 22 е показана промяната в съотношението между НМК: МНМК: ПНМК в основните класове фосфолипиди.



Фигура 22. Промени в съотношението НМК:МНМК:ПНМК в основните фосфолипидни класове при ферментация

След протичане на ферментацията е установено намаляване нивото на наситените мастни киселини до 2-3 пъти (21,3 – 31,4%), но въпреки това тяхното съдържание отново е по-високо в сравнение с това на ТАГ.

Намаляването на НМК след ферментация е за сметка на увеличаване количеството на ПНМК (от 6,5 – 20,6% до 37,4 – 49,9%), докато съдържанието на МНМК остава практически постоянно (29,0 – 30,8% преди и 26,2 – 24,2% след ферментацията).

7.3.2.2. Промени в стероловия състав на глицеридното масло

Не може да се установи ясна тенденция в промяната между съотношението на свободните (93,5% преди и 94,1% след ферментация) и естерифицираните стероли, съответно 6,5% и 5,9%. Практически тяхното количество не се влияе от протеклия биохимичен процес и остава постоянно.

Получените резултати от промените в индивидуалния стеролов състав на глицеридното масло са показани в Таблица 28.

Таблица 28

Промени в индивидуалния стеролов състав по време на ферментация

Стероли	Гроздово масло			
	преди ферментация		след ферментация	
	свободни	свързани	свободни	свързани
Холестерол	0,5 ± 0,02	1,3 ± 0,04	0,6 ± 0,01	6,4 ± 0,2
Брасикастерол	2,4 ± 0,1	1,4 ± 0,04	2,4 ± 0,04	4,3 ± 0,2
Кампестерол	20,0 ± 0,4	14,0 ± 0,6	20,0 ± 0,6	7,1 ± 0,1
Стигмастерол	3,3 ± 0,2	6,9 ± 0,1	2,5 ± 0,1	5,0 ± 0,2
Δ ⁷ -Кампестерол	1,7 ± 0,1	2,4 ± 0,1	2,0 ± 0,1	3,5 ± 0,1
β-Ситостерол	70,4 ± 1,4	70,9 ± 2,1	71,0 ± 2,1	61,6 ± 1,2
Δ ⁵ -Авенастерол	0,5 ± 0,01	1,4 ± 0,1	0,4 ± 0,01	4,3 ± 0,1
Δ ⁷ -Авенастерол	0,6 ± 0,02	0,8 ± 0,02	0,4 ± 0,02	4,3 ± 0,2
Δ ⁷ -Стигмастерол	0,6 ± 0,01	0,9 ± 0,02	0,7 ± 0,01	3,5 ± 0,1

Не се забелязва практическа промяна в състава на свободните стероли, докато картината във фракцията от свързаните стероли в двата изследвани етапа е различна. Количествата на холестерол, брасикастерол, Δ⁵-авенастерол, Δ⁷-авенастерол и Δ⁷-стигмастерол се увеличават, за сметка на кампестерола и β-ситостерола, докато промените в съдържанието на стигмастерол и Δ⁷-кампестерол в стероловите естери след ферментация са незначителни.

Промени в мастнокиселинния състав на свързаните стероли

Промените в мастнокиселинния състав на естерифицираните стероли преди и след процеса на ферментация на гроздето са представени в Таблица 29.

Таблица 29

Промени в мастнокиселинния състав на стероловите естери

Мастни киселини, %	Гроздово масло	
	преди ферментация	след ферментация
Лауринова (C _{12:0})	0,3 ± 0,02	0,3 ± 0,01
Миристинова (C _{14:0})	1,3 ± 0,04	0,3 ± 0,01
Пентадеканова (C _{15:0})	0,3 ± 0,01	0,1 ± 0,0
Палмитинова (C _{16:0})	16,4 ± 0,7	11,6 ± 0,3
Палмитолеинова (C _{16:1})	0,2 ± 0,01	0,1 ± 0,0
Маргаринова (C _{17:0})	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0
Стеаринова (C _{18:0})	3,5 ± 0,1	0,3 ± 0,01
Олеинова (C _{18:1})	35,5 ± 1,1	26,4 ± 0,5
Линолова (C _{18:2})	40,7 ± 1,2	59,4 ± 2,4
Линоленова (C _{18:3})	0,3 ± 0,01	0,1 ± 0,0
Арахинова (C _{20:0})	0,8 ± 0,03	0,4 ± 0,01
Гадолеинова (C _{20:1})	0,3 ± 0,01	0,6 ± 0,03
Бехенова (C _{22:0})	0,2 ± 0,01	0,3 ± 0,01

Количеството на наситените мастни киселини (палмитинова и стеаринова), както и това на мононенаситената олеинова киселина, значително намалява след протичане на ферментацията, за сметка на увеличаване съдържанието на линоловата киселина (съответно от 40,7% до 59,4%). Това води до по-висока степен на ненаситеност, отколкото при триацилглицеролите. Всички останали идентифицирани мастни киселини се съдържат в минимални количества (под 1,0%) и тяхното изменение след протичане на биохимичния процес е незначително.

7.3.2.3. Промени в токофероловия състав на глицеридното масло

Промените в токофероловия състав на гроздовото масло са показани на Таблица 30.

Таблица 30

Промени в токофероловия състав по време на ферментация

Токофероли, %	Гроздово масло	
	преди ферментация	след ферментация
α-токоферол	84,4 ± 3,4	95,8 ± 1,4
γ-токоферол	15,6 ± 0,3	4,2 ± 0,1

След протичане на ферментацията се забелязва увеличаване съдържанието на α-токоферол, за сметка на γ-токоферол.

7.4. ОКСИДАНТНА СТАБИЛНОСТ НА ГРОЗДОВО МАСЛО И ВЪЗМОЖНОСТИТЕ ЗА УВЕЛИЧАВАНЕ СРОКОВЕТЕ МУ ЗА СЪХРАНЕНИЕ

Оксидантната стабилност е важен показател, зависещ от мастнокиселинния състав, наличието на природни антиоксиданти, както и от начините на добро съхранение на маслото. От оксидантната стабилност на маслото се определя и неговото качество като хранителен продукт и срока му на годност.

7.4.1. Повишаване оксидантната стабилност чрез влагане на подходящи антиоксиданти

За провеждане на изследванията е използвано сурово масло от сорт *Мавруд*, закупено от винарска изба „Загрей“ край гр. Първомай.

За удължаване срока на годност на маслото са използвани различни антиоксиданти от природен и синтетичен произход, които са влагани индивидуално или като смеси в различни концентрации спрямо маслото. Допустимите концентрации за хранителни цели са от 0,02% до 0,05%, като по-високи стойности са позволени в масла, предназначени за козметичната промишленост. Изключение правят природни екстракти, извлечени от различни билкови растения, за които се счита, че са безвредни и могат да се влагат в по-големи концентрации.

Влиянието върху стабилността на маслото на индивидуално чисти антиоксиданти от природен и синтетичен произход е представено в Таблица 32.

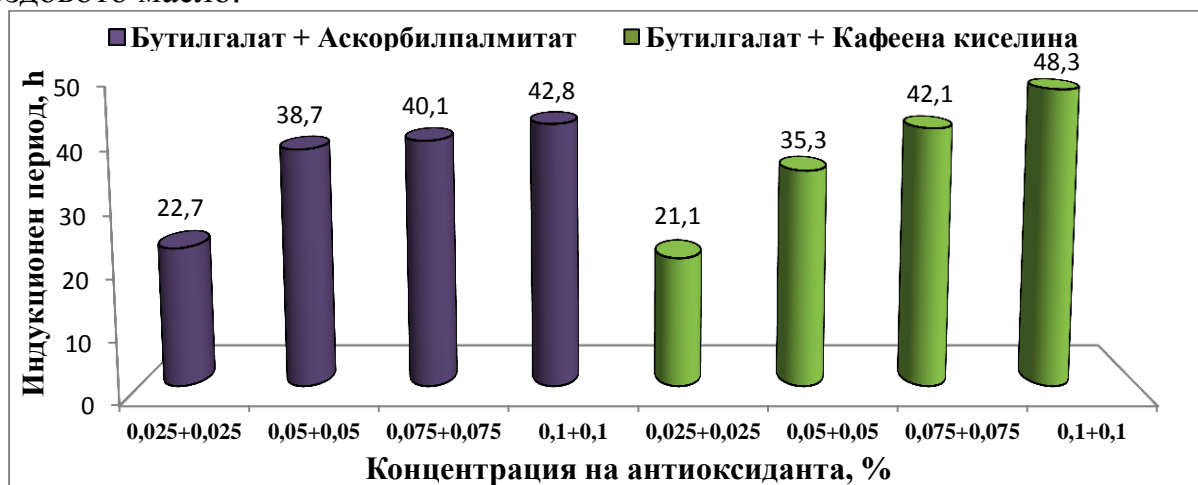
Таблица 32

Оксидантна стабилност изразена като ИП, h) и антиоксидантен ефект (АОЕ) на гроздово масло, стабилизирано с индивидуално чисти антиоксиданти от природен и синтетичен произход в концентрации от 0,05%

Антиоксидант	Индукционен период, h	АОЕ
Контрола	7,0	1,0
β-каротен + α-токоферол	9,9	1,4
Оксинекс	11,1	1,6
Розмарин	18,7	2,7
Кверцетин	14,1	2,0
Кафеена киселина	17,7	2,5
Аскорбилпалмитат	11,3	1,6
Бутилгалат	26,2	3,7

При използването на индивидуално чисти антиоксиданти от природен произход се получават добри резултати и увеличението на индукционния период е значително по-висок. Добър ефект се наблюдава при използване на розмарин и кафеена киселина, които увеличават индукционния период приблизително еднакво (2,7 и 2,5 пъти). При добавка на кверцетин също се забелязва значително повишване на стабилността (ИП – 14,1 h). Най-висок ефект обаче се получава при употребата на бутилгалат, при който индукционният период е 26,2 h, което на практика означава 3,7 пъти повишаване стабилността на гроздовото масло.

На Фигура 25 е показано влиянието на смеси от бутилгалат с аскорбилпалмитат и бутилгалат с кафеена киселина в различни, допустими за хранителни цели, концентрационни интервали върху стабилността на гроздовото масло.



Фигура 25. Оксидантна стабилност (ИП) на гроздово масло, стабилизирано със смеси от бутилгалат с аскорбилпалмитат и бутилгалат с кафеена киселина в различни концентрации.

С повишаване концентрацията на използваните антиоксидантни смеси, стабилността на маслото постепенно нараства и най-висок ефект има при концентрация от по 0,1% от всеки антиоксидант (42,8 h и 48,3 h), като тази стабилност е близо 7 пъти по-висока от контролата.

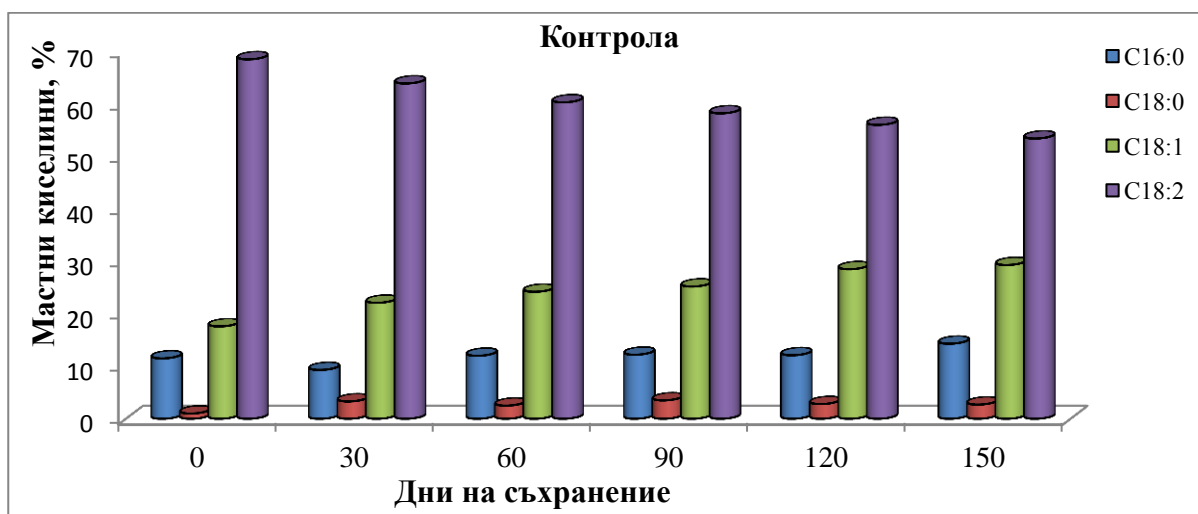
7.4.2. Определяне оксидантната стабилност на гроздово масло при дългосрочно съхранение

Условията, при които се съхраняват глицеридните масла, оказват изключително голямо значение върху тяхната стабилност. В тази връзка, вторият използван подход за проследяване степента им на окисление е чрез дългосрочно съхранение при конкретни условия и определяне промените, които настъпват в някои основни физикохимични и химични показатели през определен интервал от време.

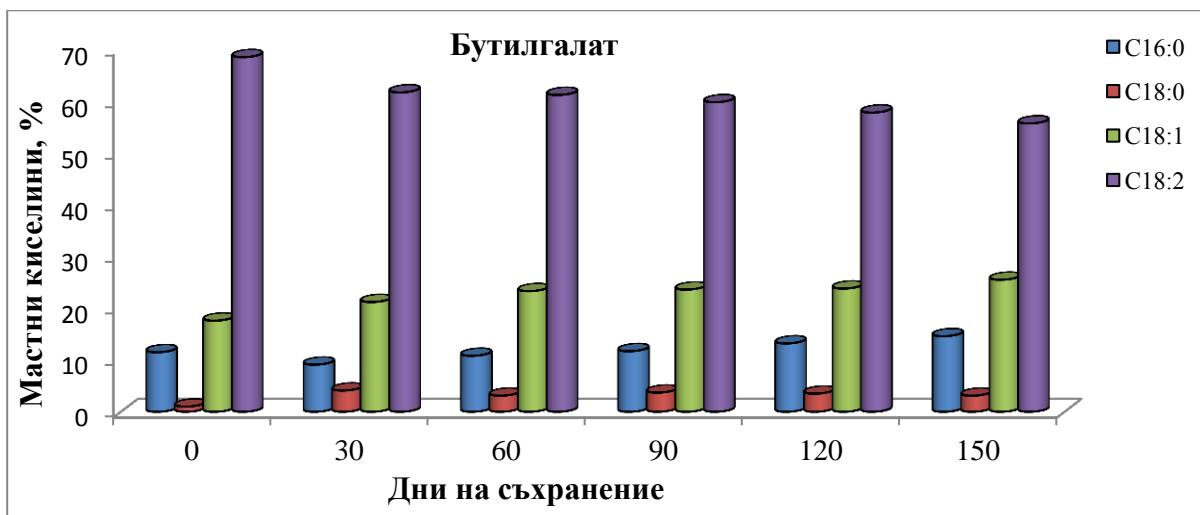
За провеждане на изследването е използвано гроздово масло, съхранявано на тъмно, в кафяви стъклени бутилки, при стайна температура (20°C). За стабилизиране на маслото са подбрани следните антиоксиданти и смеси от тях: бутилгалат (БГ) и кафеена киселина (КК) и смес от тях в съотношение 1:1, за които е установено по експериментален път, че имат най-добър антиоксидантен ефект. В продължение на 150 дни (5 месеца) са проследявани промените в някои основни физикохимични характеристики, като оксидантна стабилност (ИП, h), киселинно число (КЧ) mgKOH/g и пероксидно число (ПОЧ) meqO₂/kg, както и в мастнокиселинния и токоферолов състав на маслото.

Промени в мастнокиселинния състав

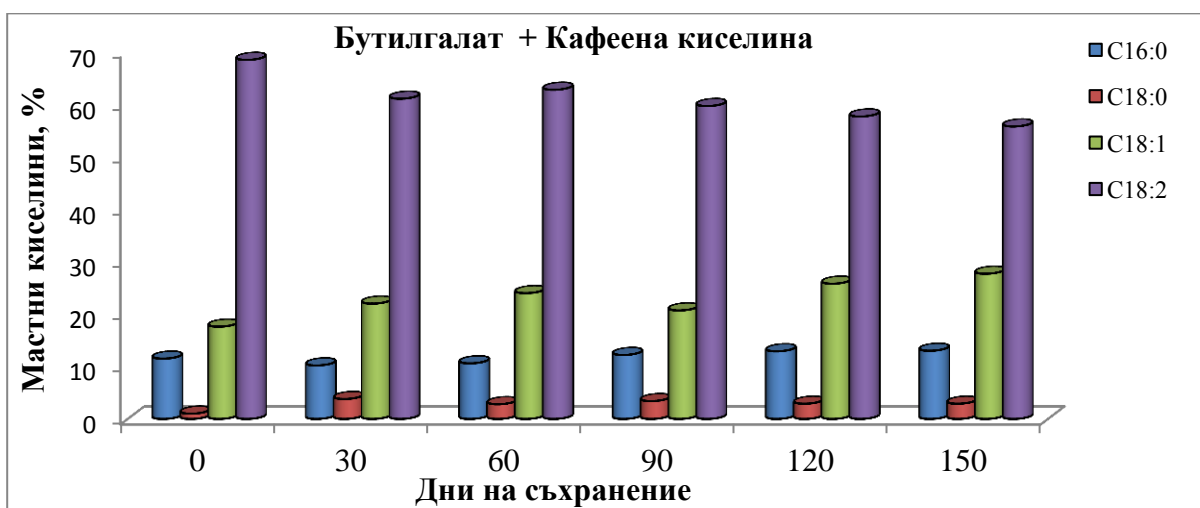
На Фигури 26, 27, 28 и 29 са представени промените в мастнокиселинния състав на нестабилизирано и стабилизирано с различни антиоксиданти гроздово масло при дългосрочно съхранение.



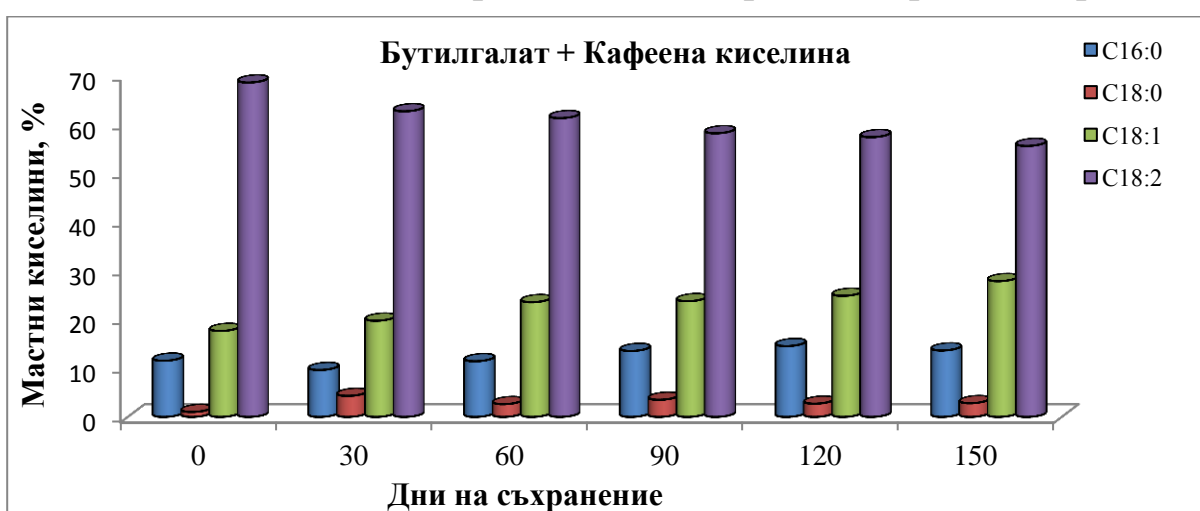
Фигура 26. Промяна в мастнокиселинния състав на нестабилизирано гроздово масло при дългосрочно съхранение



Фигура 27. Промяна в мастнокиселинния състав на стабилизирано с 0,2% БГ гроздовото масло при дългосрочно съхранение



Фигура 28. Промяна в мастнокиселинния състав на стабилизирано със смес от 0,05% БГ и 0,05% КК гроздово масло при дългосрочно съхранение



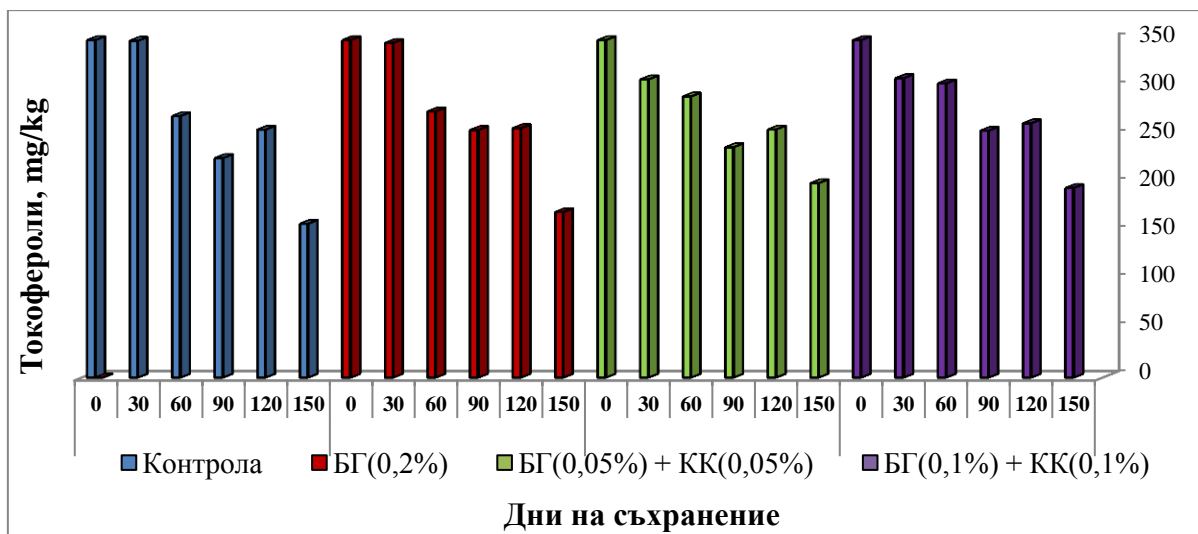
Фигура 29. Промяна в мастнокиселинния състав на стабилизирано със смес от 0,1% БГ и 0,1% КК гроздово масло при дългосрочно съхранение

Промените в съотношението на основните компоненти на триацилглицероловата фракция на контролната проба показват, че се наблюдава незначително увеличаване съдържанието на палмитинова киселина (от 11,5 % до 14,3 %), докато нивото на олеинова киселина нараства от 17,6% до 29,3%, за сметка на линоловата киселина (68,5 - 53,4%).

При съхранение на пробите, стабилизирани с бутилгалат (Фигура 27) и смес от бутилгалат и кафеена киселина (Фигури 28 и 29) се наблюдава аналогична тенденция, както при контролната проба, с тази разлика, че промените са по-слабо изразени. Измененията в мастнокиселинния състав и при трите проби с вложени в тях антиоксиданти са много близки. Вероятната причина за промяната на това съотношение е частичната деструкция на по-нестабилната линолова киселина, което от своя страна води до относително завишаване съдържанието на по-наситените мастни киселини. Резултатите за промяната на основните мастни киселини по време на съхранение се доближават до изследванията от чужди автори, според които също се наблюдава намаляване на линоловата киселина.

Промени в токофероловия състав

Изследвани са промените в общия и индивидуален токоферолов състав на стабилизирано и нестабилизирано гроздово масло.



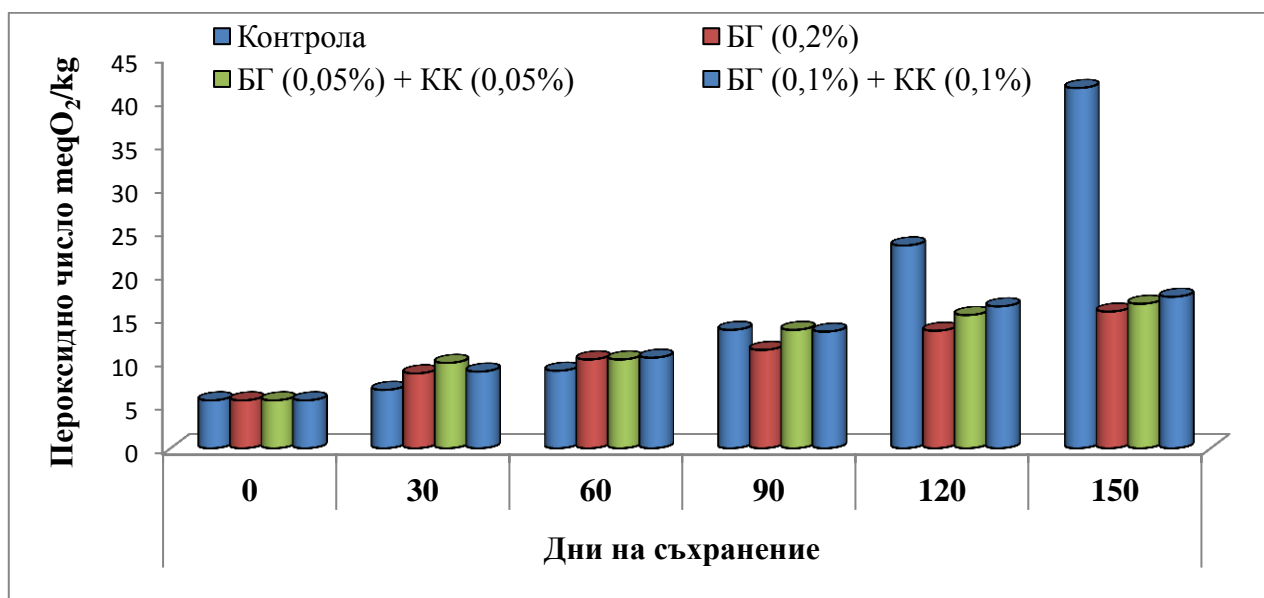
Фигура 30. Промяна в общото съдържание на токофероли на стабилизирано и нестабилизирано гроздово масло при дългосрочно съхранение

През целия изследван период на съхранение се наблюдава постепенно намаляване съдържанието на токофероли (Фигура 30). Най-значителна промяна в общото количество на токофероли се наблюдава до 90-я ден, като в края на съхранението най-ниски стойности се наблюдават при нестабилизираното масло от 350 mg/kg на 160 mg/kg и това, стабилизирано с бутилгалат от 350 mg/kg на 172 mg/kg. При съхранението на двете проби с вложени в тях антиоксидантни смеси на бутилгалат и кафеена киселина в различни

концентрации, се наблюдава по-слаба промяна 197 mg/kg за бутилгалат 0,1% и кафеена киселина 0,1% и 202 mg/kg съответно за бутилгалат 0,05% и кафеена киселина 0,05%.

Промени в пероксидното число

Проследени са измененията и в ПОЧ на стабилизирани масла, както и на пробата без вложен в нея антиоксидант (Фигура 31) при дългосрочно съхранение.



Фигура 31. Промени в пероксидното число (meqO₂/kg) на стабизирано и нестабизирано гроздово масло при дългосрочно съхранение

В контролната проба, стойността на пероксидното число нараства с много по-висока скорост в сравнение с останалите проби, които са стабилизирани. Особено голяма промяна се наблюдава в пробата без добавен антиоксидант след 120^{-я} ден на съхранение. В този ден количеството на пероксидите е ~ 23,0 meqO₂/kg, като в следващите два месеца на съхранение те нарастват значително и в края на изследвания период (150^{-и} ден) - 41,4 meqO₂/kg, което е около 7 пъти по-високо в сравнение с началото на изследването (5,5 meqO₂/kg). И в трите проби, стабилизирани с различни антиоксиданти и смеси от тях, промяната в пероксидното число е с близки стойности.

Промени в киселинното число

Показателите на киселинното число, се променят в незначителна степен през дългия период на съхранение, което може да се обясни с липсата на влага в маслото, а от тук и ниската му степен на хидролиза.

8. ИЗВОДИ

На база на проведените детайлни изследвания върху състава на семена от четири български сорта грозде могат да се направят следните изводи:

1. Установен е общият химичен и липиден състав на семената.

➤ Семената са бедни на масло и протеини, но богати на въглехидрати. Съдържанието на глицеридното масло в семената варира в зависимост от сортовата принадлежност от 11,6% до 16,5%. Основният компонент са въглехидратите (от 65,5% до 70,9%), като от тях по-голям дял се пада на неразтворимите. В състава на водоразтворимите въглехидрати преобладават дизахаридите, като в тях основен компонент е изо-малтозата, а в монозахаридите – глюкозата, галактозата и фруктозата. В минералния състав на гроздовите семена преобладават елементите K, Na, Fe и Zn;

➤ Основният компонент в триацилглицероловата фракция е линоловата киселина, следвана от олеиновата и палмитиновата киселина. В триацилглицероловата структура в най-голямо количество са формите: линолеатлинолеатлинолеат, линолеатлинолеатолеат и линолеатлинолеатпалмитат;

➤ Във фосфолипидната фракция основните компоненти са фосфатидилинозитол, фосфатидни киселини, фосфатидилхолин и фосфатидилетаноламин, като в тях с най-голямо количество са наситените палмитинова и стеаринова, а от ненаситените олеинова и линолова киселина;

➤ Установено е и общото съдържание на стероли в маслата (от 0,3% до 0,4%), като преобладаващата част са свободните (93,4 – 97,0%). И в двете стеролови фракции преобладава β -ситостеролът, следван от кампестерола и стигмастерола. Маснокиселиният състав на естерифицираните стероли е подобен на този на триацилглицеролите – основни компоненти са палмитинова, олеинова и линолова киселина;

➤ В изследваните гроздови масла съдържанието на токофероли е различно (68 – 291 mg/kg), като основен компонент е α -токоферолът (над 70%);

2. Доказани са промените в химичния и липиден състав на семена от грозде на сорт *Супер ран Болгар* по време на вегетация на плода.

➤ Количеството на глицеридното масло нараства през целия период на вегетация, а това на протеините намалява. Съдържанието на въглехидрати не се променя, като това на монозахаридите намалява за сметка на тризахаридите, а това на дизахаридите остава непроменено.

➤ В маснокиселинната фракция на глицеридното масло е увеличено количеството на полиненаситените мастни киселини за сметка на наситените;

➤ Съдържанието на биологичноактивните компоненти в маслото (фосфолипиди, стероли и токофероли) намалява значително, съответно фосфолипидите от 24,2% до 0,6%, стеролите от 2,7% до 0,3% и токоферолите от 1728 mg/kg до 68 mg/kg).

➤ Количеството на фосфатидните киселини се понижава, за сметка на фосфатидилхолина и фосфатидилинозитола. Основният компонент в мастнокиселинния състав на фосфолипидите са наситените мастни киселини, като количеството им не се променя, докато това на мононенаситените намалява, за сметка на полиненаситените киселини;

➤ В стероловата фракция намалява количеството на β -ситостерола, а кампестеролът се увеличава. В мастнокиселинния състав на свързаните стероли намалява съдържанието на наситените мастни киселини, а се повишава това на полиненаситените;

➤ В токофероловата фракция нараства съдържанието на γ -токоферол, за сметка на γ -токотриенола;

3. Доказани са промените в общия химичен и липиден състав на гроздови семена на сорт *Мавруд* в процеса на ферментация.

➤ Съдържанието на глицеридно масло в семената намалява, в резултат на протеклите хидролизни процеси. Количеството на повечето метали и общото количество на разтворимите във вода въглехидрати, особено на монозахаридите също намалява, а се увеличава това на дизахаридите;

➤ Съдържанието на всички биологичноактивни компоненти (фосфолипиди, стероли и токофероли) намалява;

➤ Основната част на мастните киселини в състава на глицеридното масло остават непроменени;

➤ В резултат на различната степен на хидролиза на отделните фосфолипиди се променя индивидуалният им състав, в посока намаляване количеството на фосфатидилинозитол. В основните фосфолипиди в най-голяма степен се хидролизират наситените мастни киселини, което води до относително нарастване на полиненаситените мастни киселини;

➤ В състава на свободните стероли не настъпват промени, докато в този на свързаните, съдържанието на кампестерол и β -ситостерол намалява за сметка на увеличеното съдържание на холестерол, брасикастерол, Δ^5 -авенастерол и Δ^7 -стигмастерол. В състава на мастните киселини на стероловите естери намалява количеството на палмитиновата и олеиновата киселина, за сметка на линоловата;

➤ В токофероловата фракция нараства α -токоферолът, за сметка на γ -токоферола;

4. Оксидантната стабилност на гроздовото масло от сорт *Мавруд* се увеличава над 7 пъти при използване на комбинация от антиоксидантите бутилгалат и кафеена киселина и се постига най-добър стабилизиращ ефект.

5. При дългосрочно съхранение на стабилизирано и нестабилизирано масло, промените в мастнокиселинния състав са незначителни. Общото съдържание на токофероли намалява. Пероксидното число нараства значително, докато киселинното не се променя. Индукционният период на нестабилизираното маслото намалява значително, а на стабилизираното незначително. При използването на 0,2% бутилгалат е постигнат най-висок антиоксидантен ефект – 12,3 пъти.

9. ПРИНОСИ

НАУЧНИ ПРИНОСИ

1. Установен е състава на семена от селектирани български сортове грозде (*Болгар*, *Супер ран Болгар*, *Мавруд* и *Широка мелнишка лоза*) и са охарактеризирани по отношение на съдържание на масло, протеини, въглехидрати и минерален състав.

2. За първи път са доказани промените в химичния и липиден състав на гроздови семена от десертен сорт *Супер ран Болгар* по време на вегетация на плода.

3. За първи път са доказани промените в химичния и липиден състав на гроздови семена от винен сорт *Мавруд* в процеса на ферментация на плодовете.

НАУЧНО-ПРИЛОЖНИ ПРИНОСИ

Научно-приложните приноси имат пряка връзка с установяване качеството на гроздовото масло, сроковете на неговата годност и възможностите за тяхното удължаване.

1. Увеличена е стабилността на гроздово масло при подходящо подбрани антиоксиданти в оптимална концентрация и е постигнат максимален ефект на стабилизиране.

2. Направена е оценка на установените промени в липидния състав на гроздово масло, с оглед оценка годността му при дългосрочно съхранение на пробите.

10. ПУБЛИКАЦИИ ПО ДИСЕРТАЦИОННАТА РАБОТА

1. **Ovcharova T.**, Zlatanov M.D., Ivanov A.S., (2014). Sterol and fatty acid composition of grape seed oil, *Bulgarian Chemical Communications*, 46(A), 106-110. (IF = 0,201)

2. **Ovcharova T.**, Zlatanov M., Ivanov A., (2014). Changes in grape seed oil during fermentation, *European International Journal of Science and Technology*, 3(9), 178-187.

3. **Ovcharova T.**, Zlatanov M., Ivanov A., (2015). Composition of Bulgarian varieties of grape fruit seeds and the changes in their composition during development, *SSRG International Journal of Agriculture & Environmental Science (SSRG-IJAES)* – 2(1), 1-6.

4. **Ovcharova T.**, Zlatanov M.D., (2015). Oxidative stability and stabilization of grape seed oil, *Bulgarian Chemical Communications*, 46 (B), 30-33. (IF = 0,201)

5. **Ovcharova T.**, Zlatanov M.D., Ivanov A.S., (2015). Composition of grape fruit seeds and the changes during fermentation, *Journal of Food and Packaging Science, Technique and Technologies*, 6, 136-139.

11. УЧАСТИЯ В НАУЧНИ КОНФЕРЕНЦИИ

1. **Овчарова Т.**, Златанов М., Иванов А., Стеролов състав на гроздово масло, Научна сесия “Дни на науката 2013”, Съюз на учените в България – Пловдив (30 – 31.10.2013 г.).

2. **Ovcharova T.**, Zlatanov M., Oxidative stability and stabilization of grape seed oil, Международна конференция „Хранителна Физика“, Пловдивски университет „Паисий Хилендарски” (10 – 12.06.2014 г.).

3. **Овчарова Т.**, Антова Г., Ненкова Т., Съдържание на алкохол в спиртни напитки, Научна конференция за студенти и докторанти „Предизвикателства в Химията“, Пловдивски университет „Паисий Хилендарски” (21 – 22 .11.2014 г.).

4. **Ovcharova T.**, Zlatanov M., Ivanov S., Composition of grape fruit seeds and the changes during fermentation, III^{-та} Международна научна конференция „Развитие на науката, технологиите и техниката при производството, опаковането, етикетирането, съхранението и дистрибуцията на храни“ - Пампорово (4 – 6.06.2015 г.).

5. **Ovcharova T.**, Zlatanov M., Stabilization of grape seed oil with different antioxidants, VI^{-та} Международна научна конференция на младите учени, Съюз на учените в България – Пловдив (11 – 13.06.2015 г.).

6. **Ovcharova T.**, Zlatanov M., Investigation of the changes in composition of grape seed oil during storage, Традиционна ежегодна научна сесия “Дни на науката 2015”, Съюз на учените в България – Пловдив (5 – 6.11.2015 г.).

БЛАГОДАРНОСТИ

Част от изследванията са проведени със съдействието на следните научни организации:

- Катедра по Лозарство към Аграрен университет, гр. Пловдив, която предостави образци от изследваните български сортове грозде;
- Лаборатория „Химия на липидите“ към Института по органична химия с Център по фитохимия при Българската академия на науките – гр. София, където бяха проведени изследванията за определяне триацилглицероловата структура на гроздовите масла;
- Лаборатория по „Биологичноактивни вещества“ към Института по органична химия с Център по фитохимия – гр. Пловдив, където беше изследван въглехидратния състав на семената;
- Лабораторно-изпитвателен комплекс към Аграрен университет, където беше определен минералния състав на семената.