

DISCRIMINANT ANALYSIS OF BULGARIAN WINES BY USING OPTICAL PARAMETERS

Stefka Minkova^{*}, Krastena Nikolova^{*}, Doychin Boyadzhiev^{}, Stefan Krustev^{*}**

^{*}Medical University, Faculty of Pharmacy, 9000 Varna, Bulgaria, kr.nikolova@abv.bg

^{**}University of Plovdiv, Faculty of Mathematics and Informatics, 4000 Plovdiv, Bulgaria

ABSTRACT

The optical parameters (color coordinates in XYZ and SIE Lab colorimetric systems, lightness, Chroma, Hue angle, emission fluorescence wavelength, ratio of intensities of emission and excitation for excitation wavelength 245 nm) for 92 wine samples have been investigated. They are grouping to the following parameters: geographic region, year of production, type of wine.

The obtained models with grouping variable "geographic region" or "type of wine" correctly classifies 100 % of unidentified samples. The model with grouping variable "year of production" does not exist for all types of wine. The model with 100 % classification has been found only for white wines, for red wines model gives 67% correct classification. The last fact may be explained with the difference in content of pigments, antocyanins and antioxidants, which depends on the weather condition, sunshine and the other factors.

Keywords: *color parameters, fluorescence, wine, discriminant analysis*

ВЪВЕДЕНИЕ

Виното е една от най-често консумираните алкохолни напитки в света със алкохолно съдържание между 10-15 % и рН най-често между 3.2 и 4. То съдържа различни видове захари, фенолни съединения, неорганични компоненти, киселини и други. Полифенолите като флаваноиди, антоциани, стилбени и фенолни киселини играят важна роля за сензорните качества на виното и допринасят за укрепване на човешкото здраве [10,16]. Автентичността, качеството и антиоксидантните свойства на винените образци най-често се свързват с техните оптични характеристики-цветови параметри, абсорбция във видимия диапазон и интензитет на излъчения флуоресцентен сигнал. Цветовите параметри дават информация за типа вино, начина на производство, както и за процеса на стареене. Стабилността на цвета зависи от формирането на пигменти в резултат на окисление или поради различното съдържание на SO₂ [15]. Нарастването на коефициентите на абсорбция при 420nm, 520 nm и 620 nm е свързано с нива на SO₂ над 5 mg L⁻¹ [8]. Флуоресцентните свойства могат да бъдат използвани също за разграничаване на отделните типове вина, тъй като структурата на фенолите дава различни промени във флуоресцентните спектри [11].

Целта на настоящото изследване е да се установят възможностите на математико-статистическото моделиране чрез използване на оптични параметри да бъдат различавани български вина по регион, по година на производство и тип.

За реализиране на целта трябва да бъдат решени следните задачи:

- ✓ Създаване на база от винени образци от различен регион и година на производство, но от един и същи сорт грозде.
- ✓ Натрупване на база данни за цветови параметри в две колориметрични системи SIE Lab и XYZ и за флуоресцентни спектри, получени при дължина на вълната на възбуждане 250 nm.
- ✓ Установяване на значими разлики в изследваните показатели.
- ✓ Моделиране и анализ на получените групи по регион, година на производство и тип.
- ✓ Проверка на установените модели чрез използване на независими образци.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Образци

Изследвани са 92 винени образци, получени директно от винарска изба или закупени от търговската мрежа. Вината са от избрани сортове червено и бяло грозде от различни региони в южна България през периода 2014-2016 година. Информация за произхода на посочените вина е представена в Таблица 1.

Таблица 1. Тип, географски регион и реколта на използваната база данни

Сорт	Тип вино	Година на производство	Регион	Брой проби
мерло	червено	2015	Ямбол	4
		2016	Старосел	16
мерло+марселин		2014	Първомай	4
мерло резерва		2016	Ямбол	4
Рикацители	бяло	2014	Старосел	4
Мискет	бяло	2014	Старосел	4
Шардоне	бяло	2015	Старосел	4
		2016		4
Сира	червено	2014	Първомай	4
Рубин	червено	2014	Първомай	4
Димят	червено	2014	Първомай	4
Каберне	червено	2014	Старосел	4
		2015		
Каберне	червено	2015	Старосел	4
		2015	Франция	4
КабернеСовиньон	червено	2016	Първомай	4
Червен пелин		2014	Старосел	4
Бял пелин		2014	Старосел	4
Розе		2015	Старосел	4
			Ямбол	4
		2016	Старосел	4

Методи

Определянето на цветовите характеристики на винените образци е извършено чрез спектрофотометър Thermo Scientific Helios Omega UV-VIS във видимия диапазон. Използвана е кювета с дебелина 10 mm и обем 1.5 ml. Всички измервания са проведени при стайна температура непосредствено след отваряне на бутилката.

Флуоресцентните характеристики на винените образци са получени с влакнесто оптичен спектрофотометър (AvaSpec-2038, Avantes), чувствителен в областта (200-1100) nm с резолюция 8 nm. За възбуждане на пробите е използван светодиод с дължина на вълната 250 nm.

Статистически анализ

Използвана е програмата "Statistica" за обработка на данните. Разпределението им е нормално, установено по критерия на Колмогоров-Смирнов [9,14]. За установяването на статистически значимите разлики между показателите за различните сортове е приложен критерий за множествени сравнения на Тюки[2]. При моделиране на групите вина с групираща променлива „година на производство“, „географски регион“ или „тип“ е използван дискриминантен анализ с априорно равни вероятности за попадение в групите

[1,3]. Получени са данни за махаланобисовите разстояния.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

Критерият на Шеффе установява значими статистически разлики в типовете вина по изследваните оптични параметри. Наличието на съществени разлики в оптичните характеристики дава основание за последващо моделиране.

За моделиране на вината по регион е използван постъпков линеен дискриминантен анализ. Получен е модел с групираща променлива „географски регион”, включващ следните параметри по реда на влизане в модела – светлост „L“, цветови параметри „b“ и „x“. Резултатите от анализа са представени в Таблица 2. В модела не са използвани четирите френски вина от сорт Каберне.

Таблица 2. Статистически данни за групираща променлива „географски регион“

variable	SS effect	df effect	MS effect	SS error	Df Error	MSError	F	p
X	4,489. 10 ³	1	4,489.10 ³	1,496. 10 ⁵	86	1,740.10 ³	2,580	0,112
Y	5,429.10 ³	1	5,429.10 ³	1,66. 10 ⁵	86	1,938.10 ³	2,801	0,098
Z	7,200. 10 ³	1	7,201.10 ³	1,616. 10 ⁵	86	1,879.10 ³	3,833	0,053
x	7,221.10 ³	1	7,221.10 ³	4,587. 10 ⁵	86	5,334.10 ³	1,354	0,248
y	1,15. 10 ⁻⁵	1	1,15.10 ⁻⁵	3,193E-02	86	3,71.10 ⁻⁴	0,031	0,861
L	1,514.10 ³	1	1,514.10 ³	1,451. 10 ⁵	86	1,688. 10 ³	0,897	0,346
a	1,644.10 ³	1	1,644.10 ³	3,061. 10 ⁴	86	3,55. 10 ²	4,620	0,034
b	1,285.10 ³	1	1,285.10 ³	7,680.10 ³	86	8,91. 10	14,387	0,000
C	3,058.10 ³	1	3,058.10 ³	3,256. 10 ⁴	86	3,78.10 ²	8,077	0,006
H	1,144.10 ³	1	1,144.10 ⁴	1,943. 10 ⁵	86	2,260. 10 ³	5,064	0,027
$\lambda_{emission}, nm$	1,281.10 ⁵	1	1,281.10 ⁴	2,598. 10 ⁵	85	3,06. 10 ²	41,923	0,000
I, a.u.	4,437.10 ⁹	1	4,437.10 ⁹	2,445. 10 ¹⁰	86	2,8. 10 ⁸	15,609	0,000
I_{em}/I_{250}	8,521.10 ⁴	1	8,521.10 ⁴	1,02. 10 ⁶	86	1,188.10 ⁴	7,173	0,009

Според анализа изследваните винени образци се разделят в две групи – първата обединява пробите от Старосел, а в другата попадат тези от Ямбол и Първомай. Червените вина от втората група имат малка светлост между 3.5 и 13.3, характеризират се с компонента b, отговаряща за жълтия оттенък на цвета, намираща се в интервала (6-23). Докато тези от района на Старосел имат засилена жълта компонента $b \in (16.2 - 28)$, светлост, варираща в по-тесни граници $L \in (9.4 - 16.4)$. Розето от втората група се характеризира с по-голяма светлост отколкото това от Старосел.

За всички червени вина и розе от района на Старосел цветовия параметър „a“ е двойно по голям от цветовия параметър „b“. Следователно в посочения регион за пробите, получавани от червено грозде, преобладава червената над жълтата цветова компонента. Подобен резултат е наблюдаван за турски червени вина от сортовете Каберне совиньон и Kalesik Karasi[13]. В своето изследване авторът отбелязва, че червено вино от грозде сорт Сира има по ниска стойност на съдържанието на жълтата компонента. За българското червено вино от същия сорт се потвърждава предположението за параметъра „a“. Българските образци от посочения сорт грозде контрастират с висока светлост около 90, което е два пъти по-висока светлост от испански червени вина от същия тип, реколта 2010, където $L=45.7$ [6].

Според цветовете характеристики може да се заключи, че образците от червено вино от района на Първомай и Ямбол притежават по-висок интензитет на цвета т.е. ниска светлост и най-нисък оттенък, което се свързва с високо общо фенолно съдържание и съдържание на антоциани. Възможно е тези особености да са свързани със сортовете грозде и техния период на зреене. Съществуват данни, че вина от сортове, зреещи през октомври имат по-ниска

светлост, отколкото такива от сортове, зреещи през септември [13].

Направена е проверка на модела с четири проби френско вино от сорт Каберне. Според модела, пробите попадат в групата на вината от Старосел. Последният факт навежда на мисълта, че климатичните условия и периода на зреене на типовете грозде от двата региона са сходни.

Направен бе опит да бъдат различени пробите освен по географски регион и по година на получаване. Универсален модел за всички типове вина не съществува. Само за червените вина модела дава сравнително ниска разпознаваемост на пробите около 67%. Поради голямата грешка няма да бъде коментиран повече. Добър модел със 100% правилна класификация е получен за белите вина с групираща променлива „година на производство“. Данните са представени в Таблица 3.

Таблица 3. Статистически данни за групираща променлива „година на производство“ за бели вина

variable	SS effect	Df effect	MS effect	SS error	Df Err	Ms error	F	p
X	$5,241 \cdot 10^3$	2	$2,621 \cdot 10^3$	$1,851 \cdot 10^4$	29	$6,382 \cdot 10^2$	4,106	0,027
Y	$6,739 \cdot 10^3$	2	$3,370 \cdot 10^3$	$2,409 \cdot 10^4$	29	$8,305 \cdot 10^2$	4,057	0,028
Z	$8,311 \cdot 10^3$	2	$4,155 \cdot 10^3$	$2,639 \cdot 10^4$	29	$9,101 \cdot 10^2$	4,566	0,019
x	$1,427 \cdot 10^4$	2	$7,137 \cdot 10^3$	$4,36 \cdot 10^5$	29	$1,506 \cdot 10^4$	0,474	0,627
y	$1,38 \cdot 10^{-4}$	2	$6,908 \cdot 10^{-5}$	$1,48 \cdot 10^{-3}$	29	$5,11 \cdot 10^{-5}$	1,352	0,275
L	$1,562 \cdot 10^3$	2	$7,811 \cdot 10^2$	$1,405 \cdot 10^4$	29	$4,845 \cdot 10^2$	1,612	0,217
a	$1,085 \cdot 10^3$	2	$5,425 \cdot 10^2$	$9,661 \cdot 10^3$	29	$3,332 \cdot 10^2$	1,628	0,214
b	$7,47 \cdot 10^2$	2	$3,738 \cdot 10^2$	$5,262 \cdot 10^3$	29	$1,814 \cdot 10^2$	2,060	0,146
C	$1,708 \cdot 10^3$	2	$8,539 \cdot 10^2$	$1,395 \cdot 10^4$	29	$4,812 \cdot 10^2$	1,775	0,187
H	$1,953 \cdot 10^5$	2	$9,764 \cdot 10^4$	$6,421 \cdot 10^3$	29	$2,214 \cdot 10^2$	440,98	0,000
$\lambda_{emission}, nm$	$2,615 \cdot 10^3$	2	$1,308 \cdot 10^3$	$1,079 \cdot 10^4$	29	$3,721 \cdot 10^2$	3,514	0,043
I, a.u.	$3,122 \cdot 10^8$	2	$1,561 \cdot 10^8$	$4,489 \cdot 10^9$	29	$1,548 \cdot 10^8$	1,008	0,377
I_{em}/I_{250}	$2,177 \cdot 10^4$	2	$1,088 \cdot 10^4$	$1,278 \cdot 10^5$	29	$4,40 \cdot 10^3$	2,470	0,102

В новия модел влизат три параметъра - тълът на Хю Н, светлостта L и координатата на цветността у. За по-добро онагледяване на резултатите е проведен последващ каноничен анализ. Разположението на отделните проби (на базата на първите две канонични променливи) е представено на Фигура 1 и потвърждава изказаното предположение за наличие на значими различия между отделните групи бели вина според годината на добиване. В Таблица 4 са дадени получените махаланобисови разстояния между центроидите на отделните групи бели вина по години. С тяхна помощ може да се определя близостта между отделните групи.

Таблица 4. Махаланобисови разстояния по модела “година на производство“

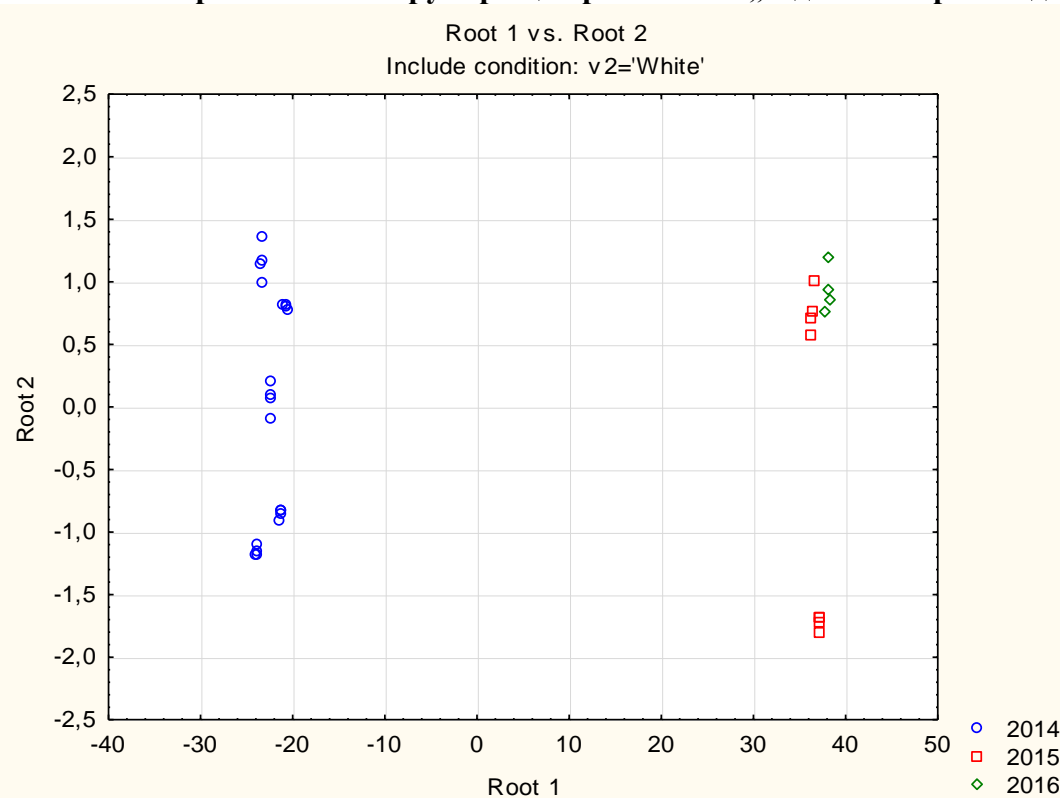
	Махаланобисови разстояния		
	2014	2015	2016
2014	0,00	3494,97	3650,40
2015	3494,97	0,00	3,70
2016	3650,40	3,70	0,00

Белите вина от реколти 2015 и 2016 се различават несъществено, а тези от реколта 2014 са явно отдалечени от другите две групи.

Направен е опит за класификация по „тип вино“. След анализ на резултатите става ясно, че пробите според оптичните си параметри се разделят в три основни групи – бяло, червено и розе. За подгрупи на отделните типове с цел обединяване по „сорт грозде“ в

бъдеще ще бъде създадена по-голяма база данни и ще се разширят възможностите на математико-статистическото моделиране за разграничаване на типове вина по сорт. Модел с правилна класификация е получен за пробите с групираща променлива „тип вино“.

Фигура1. Онагледяване на разположението на вино според първите две канонични променливи с групираща променлива „година на производство“



Подобно разделяне на винени образци е правено чрез метода SoftIndependentModeling of ClassAnalogy (SIMCA), използвайки CIELab цветови параметри (L, a, b, C,H) като променливи в модел за разграничаване на червено вино, розе и смесено [12].

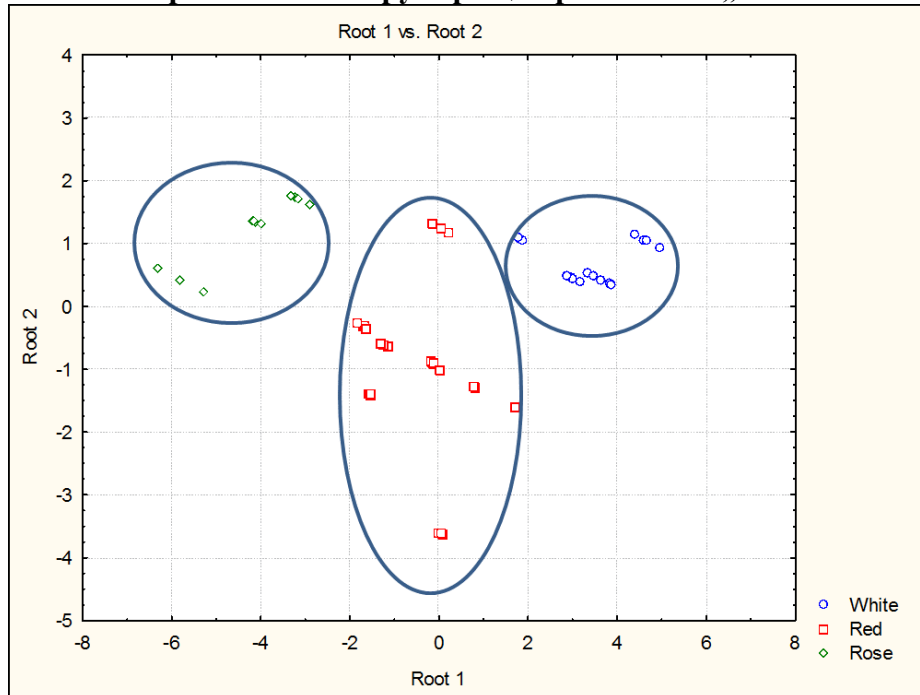
В получения от нас модел влизат цветовите параметри „a“, „b“, светлостта „L“, интензитетът на флуоресценция и отношението $I_{emission}/I_{250}$. Цветовият параметър „a“ е

отрицателен за всички бели вина от сорт Шардоне и принадлежи на интервала (-0.1÷-0.7). Сходни стойности на цветовия параметър „a“ имат и турски бели вина от същия сорт, при тях $a \in (-0.84 \div -1.41)$ [13]. Наличието на преобладаваща зелена компонента в българските бели вина от посочения сорт ги отличава от всички други образци от сортове Рикацители, Мискет, Каберне, Димят и др, притежаващи положителни стойности за „a“. Това отличава тези бели вина от турските бели вина от сортове Emir, Narinse, Muskat, Sultaniye [13]. КабернеСовиньон и френските проби вино имат ъгъл на Хю (34.6 -34.9), много близък до този на вина от сорт грозде КабернеСовиньон, реколта 2005 от регион DO Carinena[6]. Розето от района на Ямбол е със сходна светлост и наситеност на цвета до розе от Okurgory, Турция[13]. Първите три цветови параметъра, влизащи в модела са от съществено значение за различаване на типовете български вина от други, получени от същия сорт грозде, но в друга страна.

Изследваните образци проявяват флуоресцентни свойства, дължащи се на фенолни киселини като ванилова, галиева, кафеена и на флаваноли като епикатехин и катехин. Розе, Червен пелин, Мерло, Каберне и Рикацители от района на Старосел потвърждават

наблюдаваната от Airado-Rodriguez [4] флуоресценция на излъчване в интервала от 302 nm до 405 nm за дължина на вълната на възбуждане 240 nm. Всички останали винени образци също проявяват флуоресцентни свойства с дължина на вълната на излъчване между 290 nm и 450 nm, дължащи се на фенолни съединения и флавоноиди според [7]. Разположението на получените групи е представено на Фигура 2.

Фигура 2. Онагледяване на разположението на вино според първите две канонични променливи с групираща променлива „тип вино“



Анализът на Махаланобисовите разстояния между трите основни групи показва, че най-отдалечени са бялото вино и розето (Таблица 5). Това би могло да се обясни с това, че технологията на производство е като на бяло вино, но се получава от сортове червено грозде. Близостта между групите розе и червено вино е наблюдавана и за турски вина [13].

Таблица 5 Махаланобисови разстояния по модела „тип вино“

	Махаланобисови разстояния		
	Бяло вино	Червено вино	Розе
Бяло вино	0	18.82	62.86
Червено вино	18.82	0	20.26
Розе	62.86	20.26	0

Използвани са 32 проби контроли за адекватното описание на модела “тип вино“, разпределени както следва 8 бели и 24 червени вина. Всички бели вина се разпознават правилно, една от пробите червено вино от сорт Рубин се разпознава като розе и 8 проби червено вино от сорт Мерло от района на Ямбол също се разпознават като розе. Последният факт може да бъде свързан с технологията на производство или климатичните особености на региона.

**Таблица 6. Проверка на модела „тип вино“с независими проби и тяхното
разпознаване**

		Класификационна матрица Редове: наблюдавано според производителя (етикета) Колони: Предсказана класификация			
		Процент коректно класифицирани	Бяло вино	Червено вино	Розе
Бяло вино	8	100.0%	8	0	0
Червено вино	24	62.5%	0	15	9
Общо	32	71.9%	8	24	9

ИЗВОДИ

Базата от резултатите за цветовите параметри в две колориметрични системи - XYZ и SIELabi флуоресцентните спектри дава възможност за характеризиране на отделните групи вина с групиращи променливи съответно „година на производство“ само за бели вина, „географски регион“ и „тип вино“ с помощта на дискриминантния анализ.

Проведените изследвания на оптични характеристики за случайни проби потвърждават диференцирането на отделните групи според получения математически модел с групираща променлива „тип вино“.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бондарь, А., Статюха, Г. 1976: Планирование эксперимента в химической технологии, Изд. Высшая школа, Москва.
2. Калинов, Кр. 2001: Статистически методи в поведенческите и социалните науки, НБУ, София.
3. Лакин, Г., 1990: Биометрия, Изд. Высшая школа, Москва.
4. Airado-Rodriguez, D., Duran-Meras, I., Galeano-Diaz, T., Wold, J. P., “Front face fluorescence Spectroscopy: A new tool for control in the wine industry“. Journal of Food Composition and Analysis. 24: 257-264, 2011.
5. Avizcuri, J.M., Saenz-Navajas, M. P., Echavarri, J. F., Ferreira, V., Fernandez-Zurbano, P., “Evaluation of the impact of initial red wine composition on changes in color and anthocyanin content during bottle storage“. Food Chemistry, 213: 123-134, 2016.
6. Bautista-Ortin, A., Fernandez, J., Lopez –Roca, J., Gomez-Plaza, E., “The effect of grape ripening stage on red wine color“. J. Int. Sci. Vigne Vin, 40: 15-24, 2006.
7. Cabrere-Banegil, M., Hurtado – Sanchez, Galiano-Diaz, T., Duran-Meras, I., “Front-face fluorescence spectroscopy combined with second - order multivariate algorithms for the quantification of polyphenols in red wine samples“. Food Chemistry, 220: 168-176, 2017.
8. Carrascon, V., Fernandez-Zurbano, P., Bueno, M., Ferreira, V., “Oxygen composition by red wines. Part II: Differential effects on color and chemical composition caused by oxygen taken in different sulfur dioxide-related oxidation contexts“. Journal Agriculture and Food Chemistry, 63: 10938-10947
9. Geoffrey, J., Lachlan, Mc.. 1992: In Discriminant Analysis and Statistical Pattern Recognition. John Wiley & Sons. Inc.
10. Jang, M., Cai, I., Udeani, G.O., “Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes“. Food Science, 275: 218-220, 1997.
11. Koutoudakis, N., Gonzales, E., Gil, M., Esteruelas, M., Fort, F., Canals, J., Zamora, F., “Influence of wine pH on Changes in color and polyphenol composition induced by micro-oxygenation“. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59: 1974-1984, 2011.
12. Meléndez, M. E., Sánchez, M. S., Íñiguez, M., Sarabia, L. A., Ortiz, M. C., “Psychophysical

parameters of colour and the chemometric characterisation of wines of the certified denomination of origin 'Rioja'". *Anal Chim Acta*, 446: 159-169, 2001.

13. Senilk., 2014: Characterization and classification of wines from grape varieties grown in Turkey, Thesis for PHD, Izmir.

14. Vandeginste, B. G. M., Massart, D. L., Buydens, L. M. C., De Jong, Lewi, S., Smeyers, P. J. 1998: *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics Part A. Part B.* – Verbeke (ed.), Elsevier.

15. Wirth, J., Morel-Salmi, C., Souquet, J. M., Dieval, J. B., Aagaard, O., Vidal, S., Fulcrand, H., "The impact of oxygen exposure before and after bottling on the polyphenolic composition of red wines". *Food Chemistry*, 123: 107-116, 2010.

16. Woraratphoka, J., Intarapichet, K., Indrapichate, K., "Phenolic compounds and antioxidative properties of selected wines from the northeast of Thailand", *Food Chemistry*, 104: 1485-1490, 2007.