

УДК 634.862/.863:663.252.6/.253.34:613.292

ПОЛИФЕНОЛЫ ВИНОГРАДНОЙ ГРОЗДИ, КАЧЕСТВЕННЫЙ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ, ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ЗАПАС

© *И.В. Черноусова^{1*}, В.Е. Мосолкова¹, Г.П. Зайцев¹, Ю.В. Гришин¹, Т.А. Жилыкова¹, Ю.А. Огай²*

¹ *Всероссийский национальный научно-исследовательский институт «Магарач» РАН, ул. Кирова, 31, Ялта, 298600 (Россия), e-mail: cherninna1@mail.ru*

² *ООО «РЕССФУД», ул. Макаренко 15/3, Ялта, 298612 (Россия)*

Обсуждаются результаты экспериментальной оценки потенциала виноградной грозди как источника получения полифенолов винограда, биологически активных функциональных ингредиентов питания. Идентифицированы по качественному и количественному составу полифенолы суслу, выжимки, гребней, семян, образующихся в виноделии при переработке винограда белых и красных технических сортов Алиготе, Рислинг рейнский, Цитронный Магарача, Каберне-Совиньон, Мускат гамбургский, Пино нуар. Они включают полифенолы как мономерного ряда, так и олигомерные, и полимерные проантоцианидины, составляющие около 90% общего количества полифенолов. Мономерная фракция представлена флавоноидами (антоцианы, (+)-D-катехин, (-)-эпикатехин, кверцетин, кверцетин-3-О-глюкозид, кверцетин-3-О-глюкоронид), фенольными кислотами (галловая, сиреневая, кафтаровая, 2,5-глутатионил кафтаровая, коутаровая, кофейная, фертаровая, *n*-кумаровая, феруловая), а также стильбеноидом-*транс*-ресвератролом.

Дана интегральная характеристика биологической активности комплекса полифенолов суслу, выжимки, гребней, семян по концентрации стандартного антиоксиданта тролокс, она варьирует в пределах 0.148–66.4 г/дм³ в пересчете на стандартный антиоксидант тролокс.

Показана технологическая доступность полифенолов выжимки, гребней, семян винограда при водно-этанольной экстракции в насыщенном слое без перемешивания, оценены равновесные концентрации полифенолов, переходящих в экстракт, и потенциальные количества извлекаемых при одностадийной экстракции полифенолов (технологический запас). Наибольшие величины технологического запаса полифенолов 19.46–76.12 г/кг сухой массы определены в гребнях белых и красных сортов винограда.

Ключевые слова: виноград, экстракция, технологический запас, полифенолы, антиоксиданты.

Введение

Виноград *Vitis vinifera* богат первичными и вторичными метаболитами, влияющими на качество. Виноградная гроздь состоит из виноградной ягоды, гребней. Виноградная ягода представлена тремя тканями

Черноусова Инна Владимировна – кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории функциональных продуктов переработки винограда, e-mail: cherninna1@mail.ru

Мосолкова Виктория Евгеньевна – младший научный сотрудник лаборатории функциональных продуктов переработки винограда, e-mail: mosolkova@ukr.net

Зайцев Григорий Павлович – старший научный сотрудник лаборатории функциональных продуктов переработки винограда, e-mail: gorg-83@mail.ru

Гришин Юрий Владимирович – младший научный сотрудник лаборатории функциональных продуктов переработки винограда, e-mail: grishin.iuriy2010@mail.ru

Жилыкова Татьяна Александровна – старший научный сотрудник лаборатории функциональных продуктов переработки винограда, e-mail: golden.heart@mail.ru

Огай Юрий Алексеевич – кандидат технических наук, директор, e-mail: enoant@yandex.ru

(сок, кожица, семена), которые содержат разные группы соединений, такие как органические кислоты, сахара, летучие соединения, полифенолы, фенольные кислоты. Эти разные ткани виноградной ягоды имеет разное содержание и разный состав фенольных соединений. Кожица виноградной ягоды содержит олигомерные и полимерные фенольные вещества (дубильные вещества) и пигменты. Мякоть содержит сок, но не содержит пигментов, а семена в основном содержат дубильные вещества. Биосинтез всех фенольных соединений происходит через фенилпропаноидный путь из аминокислоты фенилаланина с образованием флавоноидов и стильбенов. Фенольные соединения, как вторичные метаболиты, часто накапливаются в

* Автор, с которым следует вести переписку.

виде гликозидов, так, нефлавоноиды (оксикоричные и окисбензойные кислоты) и стильбены накапливаются в вакуолях клеток мезокарпа, а флавоноиды – в дермальных клетках кожицах винограда [1]. Нефлавоноидные полифенолы вина и винограда представлены оксикоричными, окисбензойными кислотами и *транс*-ресвератролом, также отнесены к биологически активным компонентам пищи [2]. При этом *транс*-ресвератрол, его предшественники и производные проявляют противоопухолевую, кардиопротекторную, гипогликемическую функциональную активность [3].

Флавоноиды, как одна из самых больших групп фенольных соединений, представлена антоцианами, флавонами, флаван-3-олами [4]. По наличию или отсутствию фенольных соединений сорта винограда можно разделить на красные и белые сорта. Конечное содержание и состав фенольных соединений зависит от множества факторов, важным из которых является генотип (сорт, вид), а также климат, почва и условия выращивания. Флавоноиды могут существовать как в свободной, так и конъюгированной форме, часто этерифицированные до одной или двух молекул сахара, с одной гидроксильной группой. Флавоноиды винограда в основном локализуются как в периферических слоях околоплодника ягоды, так и в некоторых слоях семенной оболочки, во внутренних толстостенных слоях гиподермы расположен основной класс флавоноидов, представленных антоцианами, проантоцианидинами (таннинами) и простыми флаван-3-олами и флавонами [4, 5]. Флаван-3-олы в ягодах винограда начинают накапливаться перед началом созревания, особенно на ранней стадии развития, а затем их концентрация снижается во время созревания [6]. Несмотря на различия в содержании флаван-3-олов в зависимости от сорта винограда, содержание этих соединений в продуктах переработки винограда в основном является результатом различий в технологии обработки винограда красных и белых сортов. Концентрация флаван-3-олов в виноградной выжимке ниже, в случае переработки винограда «по-красному» способу, когда сок винограда имеет более длительный контакт (7–10 дней) с виноградной выжимкой. В сладкой виноградной выжимке, полученной после переработки белых и красных сортов по европейской технологии без настоя на мезге, концентрация флаван-3-олов выше.

Полифенолы винограда и вина в соответствии с требованиями безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов, отнесены к биологически активным компонентам пищи, обладающим функциональным действием [1]. Так, флавоноиды, благодаря антиоксидантным свойствам, способствуют сохранению структуры и функциональной активности ДНК и белков, поддерживают функцию сердечно-сосудистой системы [7]. Биологическая активность комплекса полифенолов красных виноградных вин и концентратов из выжимки подтверждена в целом ряде исследований отечественных и зарубежных авторов [8–15], в том числе при реабилитации больных ишемической болезнью сердца и гипертонией [3, 15–17].

Антиоксидантная активность полифенолов препарата Диприм, полученного водно-этанольной экстракцией гребней дальневосточного винограда, в эксперименте болевого стресса у животных позволила защитить фосфолипидный спектр плазматических мембран гепатоцитов и снять тканевую гипоксию [17]. Полифенолы препарата Диприм представляют собой комплекс флавоноидов катехиновой группы и проантоцианидинов.

Литературная информация о технологическом запасе полифенолов в винограде противоречива, как правило, содержит отрывочные данные о локализации, качественном и количественном составе полифенолов в разных частях грозди винограда красных и белых технических сортов, поступающего на переработку в виноделии. Это затрудняет оценку потенциала винограда как массового сырьевого источника полифенолов – функциональных ингредиентов здорового питания.

Например, технологическим запасом фенольных веществ винограда красных сортов, культивируемых в Крыму, предлагается считать концентрацию фенольных веществ в сусле раздавленных ягод, выдержанных в течение получаса при рН 3.11–3.42 и температуре 70 °С, изменяющуюся в пределах 2.087–2.536 г/дм³ [18]. Некорректность такой оценки очевидна, так как исключает учет водно-нерастворимых полифенолов виноградной ягоды, переходящих в виноматериал при спиртовом брожении «по-красному» способу. В коммерческих образцах красных виноградных вин Крыма и Кубани концентрация фенольных веществ варьирует в пределах 3.85–4.56 г/дм³, что значительно превосходит предлагаемые оценки технологического запаса фенольных веществ в винограде [19].

Количество фенольных веществ, переходящих в виноматериал при спиртовом брожении винограда красных сортов «по-красному» для традиционных и перспективных сортов винограда Крыма и Кубани может изменяться в пределах 2.6–7.33 г/100 г сухой массы ягод [20]. Установлено, что 40%-ным водно-этанольным экстрагентом при 20 °С и перемешивании можно извлечь фенольные вещества из измельченных

виноградных семян при равновесной концентрации в экстракте 1.35 г/дм³ [21]. Для соотношения твердой и жидкой фаз 1 : 4.25, принятого в опыте, это соответствует технологическому запасу фенольных веществ около 5.7 г/100 г семян. При извлечении фенольных веществ этанолом из смеси сухих виноградных семян винограда сортов Левокумский, Мерло, Регент получено в экстракте полифенолов 1.334 г/100 г сырья [20]. Из сухой выжимки винограда тех же сортов 70%-ным водно-этанольным экстрагентом извлечено 1.253 г фенольных веществ на 100 г сырья [20].

Содержание полифенолов в гребнях дальневосточного винограда было оценено на уровне 0.35 г/100 г сырья [17].

Краткий анализ известных сегодня результатов отечественных исследований по определению сырьевого потенциала полифенолов виноградной грозди приводит к выводу о необходимости их уточнения и систематизации.

Экспериментальная оценка технологического запаса полифенолов, качественного и количественного состава комплекса полифенолов в сусле, виноградной выжимке, семенах и гребнях виноградной грозди предпринята в нашей работе.

Экспериментальная часть

Объектами исследования служили сусли, выжимка, семена, гребни винограда сортов Алиготе, Ринглинг рейнский, Цитронный Магарача, Каберне-Совиньон, Мускат гамбургский, Пино нуар, полученные на винозаводах Крыма в сезон виноделия 2017–2020 гг.

Ягоды отбирали из грозди винограда технологической зрелости, прессовали. Получали сусли и выжимку влажностью около 55% масс. Гребни оставались после отбора ягод. Семена из выжимки отсеивали на сите. Все работы по заготовке образцов сырья производились вручную.

Выжимку, семена, гребни смешивали с водно-этанольным экстрагентом крепостью 50%об., гребни перед смешиванием измельчали до размера 2–11 мм на аппарате Bosch AXT Rapid 2000. Соотношение твердой и жидкой фаз в экстракционной смеси устанавливалось из условия покрытия насыпного слоя выжимки, семян, измельченных гребней экстрагентом. Экстракцию проводили настаиванием в слое без перемешивания при температуре окружающей среды 15–20 °С до достижения равновесной концентрации полифенолов в экстракте. Время установления равновесия не превышало 45 суток. Концентрацию полифенолов в экстрактах и сусле контролировали по методу Фолина-Чокальтеу [22].

Качественный и количественный состав полифенолов сусли и экстрактов определяли методом ВЭЖХ, с использованием хроматографической системы Agilent technologies (модель 1100) с диодно-матричным детектором. Для разделения веществ применили хроматографическую колонку Zorbax SB-C18 размером 2.1 × 150 мм, заполненную силикагелем с привитой октадецилсилильной фазой с размером частиц сорбента 3.5 мкм. Хроматографирование проводили в градиентном режиме. Состав элюента: раствор А – метанол, раствор В – 0.6%-ный водный раствор трифторуксусной кислоты. Объем вводимой пробы – 1 мкл. Хроматограммы регистрировали при следующих длинах волн: 280 нм для галловой кислоты, (+)-D-катехина, (-)-эпикатехина и процианидинов, 313 нм для производных оксикоричных кислот, 371 нм для кверцетина и 525 нм для антоцианов. Расчет количественного содержания индивидуальных компонентов производили с использованием калибровочных графиков зависимости площади пика от концентрации вещества, построенных по растворам индивидуальных веществ. В качестве стандартов использовали галловую кислоту, кофейную кислоту, хлорид мальвидин-3-О-глюкозида, (+)-D-катехин, кверцетин дигидрат, изокверцетин (Fluka Chemie AG, Швейцария), *транс*-ресвератрол, (-)-эпикатехин, сиреневую кислоту, *n*-кумаровую кислоту, кемпферол, феруловую кислоту (Sigma-Aldrich, Швейцария). Содержание антоцианов определяли в пересчете на хлорид мальвидин-3-О-глюкозид, каftarовой кислоты 2-S-глутатионил каftarовой кислоты – в пересчете на кофейную кислоту, коутаровой кислоты в пересчете на *n*-кумаровую кислоту, фертаровой кислоты в пересчете на феруловую кислоту, кверцетин-3-О-глюкуронида на изокверцетин, полимерных и олигомерных процианидинов производили в пересчете на (+)-D-катехин.

Биологическую активность сусли и спиртовых экстрактов выжимки, семян, гребней виноградной грозди оценивали по показателю суммарного содержания водорастворимых антиоксидантов (АОА) в концентрации стандартного антиоксиданта тролокс амперометрически на приборе «Цвет-Яуза-01 АА», согласно ГОСТ Р 54037 [23]. Все определения проводили в трех повторностях. Результаты измерений обрабатывали стандартными методами математической статистики [24]. Воспроизводимость измерений – не менее

10%. Сходимость – не менее 5% при доверительной вероятности $P=0.95$. Различия значений величин считались достоверными при разнице не менее 5%.

Технологический запас фенольных веществ (ТЗФВ) одностадийной экстракции выжимки, семян, гребней винограда рассчитывали для равновесной концентрации полифенолов в экстрактах по формуле:

$$\text{ТЗФВ} = C \cdot V / G, \text{ г/кг}, \quad (1)$$

где C – массовая концентрация фенольных веществ (по Фолину-Чокальтеу) в равновесных экстрактах; V – объем водно-этанольного экстракта, дм^3 ; G – сухая масса экстрагируемых выжимки, семян, гребней, кг.

Результаты экспериментального исследования

Наши данные о качественном и количественном составе полифенолов суслу виноградных ягод, равновесных водно-этанольных экстрактов выжимки, гребней, семян, а также о показателях антиоксидантной активности и потенциальных технологических запасах фенольных веществ выжимки, гребней и семян виноградной ягоды для трех белых и трех красных технических сортов представлены в таблицах 1–4.

Суммарная концентрация полифенолов в сусле виноградной ягоды исследованных технических сортов в период технологической зрелости (табл. 1) варьирует в пределах 0.248–0.861 г/дм^3 (ВЭЖХ). Основную часть полифенолов (64.9–89.5%) составляют олигомерные и полимерные проантоцианидины, в меньших концентрациях содержатся мономерные полифенолы, а такие мономеры, как антоцианы, кверцетин, галловая, сиреневая, *p*-кумаровая, феруловая кислоты и *транс*-ресвератрол практически отсутствуют. Показатель антиоксидантной активности сусел изменяется в пределах 0.2–0.4 г/дм^3 по тролоксу.

Равновесные концентрации полифенолов водно-этанольных экстрактов выжимки виноградных ягод белых и красных сортов винограда (табл. 2) изменяются в пределах 1.8–39.4 г/дм^3 (ВЭЖХ). Большую часть полифенолов в экстрактах составляют олигомерные и полимерные проантоцианидины (86.1–92.8%). Среди мономерных полифенолов практически отсутствуют кверцетин-3-*O*-глюкоронид, кемпферол, протокатеховая кислота, *p*-кумаровая кислота и *транс*-ресвератрол, а также антоцианы в экстрактах выжимки белых сортов. Показатель антиоксидантной активности экстрактов выжимки виноградной ягоды составил 1.3–31.7 г/дм^3 по тролоксу, при технологическом запасе фенольных веществ 2.5–35.4 г/кг сухой массы выжимки.

Таблица 1. Полифенолы, показатель суммарного содержания водорастворимых антиоксидантов суслу винограда (средние данные за 2017–2020 гг.)

Наименование компонента, мг/дм^3	Али-гоге	Рислинг рейнский	Цитронный Магарача	Каберне Совиньон	Мускат гамбургский	Пино нуар
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>
Антоцианы, сумма	–	–	–	5.0	3.4	–
Флаван-3-олы						
(+)-D-Катехин	3.1	9.1	3.8	6.8	4.5	2.8
(-)-Эпикатехин	5.6	13.9	7.0	8.3	5.2	7.9
Сумма, мг/дм^3	8.7	33.0	11.8	15.1	9.7	10.7
Флавоны						
Кверцетин-3- <i>O</i> -глюкуронид	–	–	0.7	–	–	4.7
Кверцетин-3- <i>O</i> -глюкозид	–	0.6	0.2	–	–	5.5
Кверцетин	–	–	0.4	–	–	0.1
Сумма, мг/дм^3	–	0.6	1.3	–	–	10.3
Оксибензойные кислоты						
Галловая кислота	–	0.3	–	0.5	0.4	2.6
Сиреневая кислота	–	0.1	–	2.8	0.4	4.3
Сумма, мг/дм^3	–	0.4	–	3.3	0.8	6.9
Оксикоричные кислоты						
2-S-Глутатионил кафтаровая кислота	5.3	3.9	20.9	4.6	7.1	20.2
Кафтаровая кислота	13.3	41.8	6.1	0.4	22.4	23.7
Коутаровая кислота	0.6	3.2	1.7	0.2	1.1	6.0
Кофейная кислота	0.8	2.2	0.6	0.7	0.5	1.8
Ферттаровая кислота	3.7	8.8	3.9	4.7	3.1	7.0
<i>n</i> -Кумаровая кислота	0.2	0.7	–	–	–	0.5
Феруловая кислота	–	0.3	0.2	–	–	–
Сумма, мг/дм^3	23.9	60.9	35.4	10.6	34.2	59.2

Окончание таблицы 1

1	2	3	4	5	6	7
Транс-ресвератрол	0.–	1.5	–	–	0.8	–
Олигомерные проантоцианидины	46.1	94.5	53.9	44.0	71.2	95.2
Полимерные проантоцианидины	196.4	66.6	168.0	245.7	161.6	678.4
Сумма фенольных ВЭЖХ г/дм³	0.3	0.2	0.2	0.3	0.3	0.9
Фенольные по Фолину-Чокальтеу, г/дм ³	0.2	0.2	0.3	0.3	0.2	0.8
Суммарное содержание водорастворимых антиоксидантов АОА, по тролоксу (Цвет-Яуза-01), г/дм ³	0.2	0.2	0.4	0.2	0.2	0.4

Таблица 2. Полифенолы, показатель суммарного содержания водорастворимых антиоксидантов водно-этанольных экстрактов выжимки виноградных ягод, технологический запас фенольных веществ (средние данные за 2017–2020 гг.)

Наименование компонента, мг/дм ³	Алиготе	Рислинг рейнский	Цитрон- ный Мага- рача	Каберне Совиньон	Мускат гамбург- ский	Пино нуар
Антоцианы, сумма	–	–	–	1438.6	817.3	252.8
Флаван-3-олы						
(+)-D-Катехин	–	617	56.7	555.5	362.0	1341.9
(-)-Эпикатехин	135.0	456	59.6	422.5	342.9	997.0
Сумма, мг/дм³	135.0	1073.0	116.3	978.0	704.9	2338.9
Флавоны						
Кверцетин-3-О-глюкуронид	4.2	–	2.8	–	–	1.6
Кверцетин-3-О-глюкозид	–	124.0	1.2	108.2	150.9	–
Кверцетин	6.1	56.0	–	39.0	57.4	12.9
Кемпферол	–	9.7	–	–	–	0.4
Сумма, мг/дм³	10.3	189.7	4.0	147.2	208.3	14.9
Оксибензойные кислоты						
Галловая кислота	114.3	217.8	49.3	101.4	158.5	140.4
Протокатеховая кислота	2.1	–	0.9	–	–	1.8
Сиреневая кислота	–	–	–	16.8	–	16.1
Сумма, мг/дм³	116.4	217.8	54.2	118.2	158.5	158.3
Оксикоричные кислоты						
Кафтаровая кислота	63.1	147.0	30.0	49.3	42.0	57.2
2-S-Глутатионил кафтаровая кислота	21.7	–	27.5	–	–	6.3
Коутаровая кислота	6.6	13.1	27.6	4.6	2.0	11.1
<i>n</i> -Кумаровая кислота	5.3	3.6	–	3.1	11.1	1.5
Сумма, мг/дм³	96.7	163.7	85.1	57.0	55.1	76.1
Транс-ресвератрол	0.4	1.6	–	1.0	1.9	–
Олигомерные проантоцианидины	343.1	704.0	233.5	706.0	578.0	2030.2
Полимерные проантоцианидины	4099.5	6400.0	1356.5	30965.0	17780.0	34550.1
Сумма фенольных ВЭЖХ г/дм³	4.8	8.8	1.8	34.4	20.3	39.4
Фенольные по Фолину-Чокальтеу, г/дм ³	4.0	6.0	1.6	20.5	11.0	30.9
Суммарное содержание водорастворимых антиоксидантов (АОА), по тролоксу (Цвет-Яуза-01), г/дм ³	4.3	3.8	1.3	31.7	11.6	12.2
Технологический запас (ТЗФВ), г/кг сухой массы	6.5	11.1	2.5	24.7	12.3	35.4

Концентрации полифенолов в равновесных экстрактах гребней виноградной ягоды составили 5.7–20.8 г/дм³ по ВЭЖХ (табл. 3) при величинах показателя антиоксидантной активности 3.3–8.1 г/дм³ по тролоксу и технологическом запасе фенольных веществ 35.1–74.7 г/кг сухой массы гребней. Основное количество полифенолов водно-этанольных экстрактов гребней представлено проантоцианидами (93.3–96.9%). Среди мономеров в заметных количествах содержатся полифенолы катехиновой группы, галловая и кафтаровая кислоты, *транс*-ресвератрол обнаружен в следовых количествах.

Равновесные водно-этанольные экстракты семян винограда белых и красных сортов содержат 38.4–107.8 г/дм³ полифенолов (ВЭЖХ) (табл. 4). Основная часть комплекса фенольных веществ (90.4–96.0%) представлена олигомерными и полимерными проантоцианидинами. Мономерные полифенолы, в основном, содержат полифенолы катехиновой группы и галловой кислоты при полном отсутствии антоцианов, следовые количества кверцетин-3-О-глюкоронида, кемпферола, кофейной и *n*-кумаровой кислот, *транс*-ресвератрола.

Антиоксидантная активность водно-этанольных экстрактов семян винограда определена в пределах 32.2–99.7 г/дм³ по тролоксу при технологическом запасе фенольных веществ 19.5–76.1 г/кг сухой массы семян.

Таблица 3. Полифенолы, показатель суммарного содержания водорастворимых антиоксидантов водно-этанольных экстрактов гребней грозди винограда, технологический запас фенольных веществ (средние данные за 2017–2020 гг.)

Наименование компонента, мг/дм ³	Алиготе	Рислинг-рейнский	Цитронный Магарача	Каберне-Совиньон	Мускат гамбургский	Пино нуар
Антоцианы, сумма	–	–	–	9.7	5.1	15.4
Флаван-3-олы						
(+)-D-Катехин	127.6	236.0	261.4	256.4	366.8	342.1
(-)-Эпикатехин	80.4	87.0	44.6	38.8	54.1	50.3
Сумма, мг/дм³	208.0	323.0	306.0	295.2	420.9	392.4
Флавоны						
Кверцетин-3-О-глюкуронид	10.8	–	15.0	24.0	110.4	96.9
Кверцетин-3-О-глюкозид	7.1	6.8	0.8	–	9.7	12.3
Кверцетин	41.7	24.8	–	24.9	35.1	35.7
Кемпферол	5.8	4.7	21.9	1.6	4.9	3.8
Сумма, мг/дм³	69.4	36.3	37.7	50.5	160.1	148.7
Оксibenзойные кислоты						
Галловая кислота	87.5	19.9	92.9	196.1	156.6	40.2
Протокатеховая кислота	3.1	–	6.5	17.1	18.6	6.6
Сиреневая кислота	2.1	–	2.2	1.0	2.6	4.7
Сумма, мг/дм³	92.7	19.9	101.6	214.2	177.8	51.5
Оксикоричные кислоты						
Кафтаровая кислота	113.7	134.9	44.1	84.7	249.6	157.9
Коутаровая кислота	12.4	17.3	13.0	15.2	24.6	22.7
Кофейная кислота	5.9	–	–	2.7	5.5	2.5
Фертаровая кислота	20.1	–	28.4	12.2	23.8	12.9
<i>n</i> -Кумаровая к-та	4.4	2.3	–	2.4	3.7	2.4
Сумма, мг/дм³	156.5	154.5	85.5	117.2	307.2	198.4
<i>Транс</i> -ресвератрол	4.2	12.8	13.1	17.1	4.4	5.5
Олигомерные проантоцианидины	520.9	693.0	1112.0	832.6	1206.1	1169.0
Полимерные проантоцианидины	13193.3	7000.0	10025.3	17321.8	19896.3	24396.6
Сумма фенольных ВЭЖХ г/дм³	14.2	8.3	11.7	18.9	22.2	26.4
Фенольные по Фолину-Чокальтеу, г/дм ³	12.1	5.9	7.7	16.8	19.4	20.8
Суммарное содержание водорастворимых антиоксидантов (АОА), по тролоксу (Цвет-Яуза-01), г/дм ³	5.6	3.6	3.3	6.2	8.1	6.9
Технологический запас (ТЗФВ), г/кг сухой массы	41.5	58.1	35.1	59.7	69.0	74.7

Таблица 4. Полифенолы, показатель суммарного содержания водорастворимых антиоксидантов водно-этанольных экстрактов виноградных семян, технологический запас фенольных веществ (средние данные за 2017–2020 гг.)

Наименование компонента, мг/дм ³	Алиготе	Рислинг-рейнский	Цитронный магарача	Каберне-Совиньон	Мускат гамбургский	Пино нуар
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>
Флаван-3-олы						
(+)-D-Катехин	1240.7	934.0	1206.3	2105.6	743.0	5070.9
(-)-Эпикатехин	1439.8	612.0	1050.3	2106.7	636.0	4754.0
Сумма, мг/дм³	2680.5	1546.0	2256.6	4212.3	1379.0	9824.9
Флавоны						
Кверцетин-3-О-глюкуронид	–	–	–	–	–	19.3
Кверцетин-3-О-глюкозид	26.7	35.0	44.2	43.6	56.9	10.0
Кверцетин	9.2	13.6	18.3	10.5	16.5	3.1
Кемпферол	–	–	1.9	–	–	–
Сумма, мг/дм³	34.9	48.6	64.4	54.1	73.4	32.4
Оксibenзойные кислоты						
Галловая кислота	498.8	193.6	448.3	368.7	301.0	377.2
Сиреневая кислота	17.6	68.0	55.7	–	49.0	12.0
Сумма, мг/дм³	516.4	261.6	504.0	368.7	350.0	389.2

Окончание таблицы 4

1	2	3	4	5	6	7
Оксикоричные кислоты						
Кафтаровая кислота	30.1	14.7	12.3	18.1	18.6	26.4
Коутаровая кислота	2.9	2.0	3.0	3.6	1.5	10.6
Кофейная кислота	–	–	–	–	–	0.7
<i>n</i> -Кумаровая кислота	–	0.5	–	–	1.2	4.2
Сумма, мг/дм³	33.0	17.2	15.3	21.7	21.3	41.9
<i>Транс</i> -ресвератрол	0.3	0.4	0.5	–	0.2	0.3
Олигомерные проантоцианидины	1714.0	1565.0	–	2704.0	1221.0	5398.4
Полимерные проантоцианидины	76682.0	43644.0	1867.3	91130.0	35344.0	92109.2
Сумма фенольных ВЭЖХ г/дм ³	81.7	47.1	52.4	99.0	38.4	107.8
Фенольные по Фолину-Чокальтеу, г/дм ³	33.9	20.7	42.3	42.7	19.6	86.8
Суммарное содержание водорастворимых антиоксидантов (АОА), по тролоксу (Цвет-Яуза-01), г/дм ³	71.4	36.1	48.1	99.7	32.2	44.6
Технологический запас (ТЗФВ), г/кг сухой массы	33.9	19.5	36.1	41.1	20.2	76.1

Обсуждение результатов

На момент уборки винограда белых и красных сортов, достигшего технологической спелости, и его переработки в сезон виноделия 2017–2020 гг. в водно-этанольных экстрактах виноградной грозди проанализирован количественный состав полифенолов. Показано, что антоциановые мономеры найдены только в экстрактах выжимки винограда красных сортов и их значение составляет от 252 мг/дм³ до 1438 мг/дм³. Мономерные полифенолы экстрактов виноградной выжимки, гребней, семян представлены, в основном, флаван-3-олами, флавонами, галловой кислотой. Причем необходимо отметить, что концентрация флаван-3-олов (катехин, эпикатехин) сорта винограда Пино нуар составляет 2338.9 мг/дм³, что соответствует значениям концентрации данных компонентов в экстрактах семян белых сортов винограда (1546.0–2680.5 мг/дм³). Эти результаты подтверждают данные литературы о зависимости содержания и состава фенольных соединений, в основном, от генотипа винограда (сорта, вида). Суммарная концентрация полифенолов в сусле виноградной ягоды исследованных технических сортов в период технологической зрелости варьирует в пределах 0.248–0.861 г/дм³ (ВЭЖХ). Основную часть полифенолов (64.9–89.5%) составляют олигомерные и полимерные проантоцианидины, в меньших концентрациях содержатся такие мономеры, как антоцианы, кверцетин, галловая, сиреневая, *p*-кумаровая, феруловая кислоты и *транс*-ресвератрол практически отсутствуют.

Исследования мономерной составляющей комплекса полифенолов сусле виноградной ягоды, водно-этанольных экстрактов выжимки, гребней, семян винограда сортов Алиготе, Рислинг рейнский, Цитронный Магарача, Каберне-Совиньон, Мускат гамбургский, Пино нуар не выявили значимых количеств *транс*-ресвератрола.

Наши данные о том, что в сусле и водно-этанольных экстрактах выжимки, гребней, семян винограда исследованных сортов основную часть комплекса полифенолов составляют олигомерные и полимерные проантоцианидины (64.9–96.9%) идентичны данным о содержании проантоцианидинов в красных столовых виноградных винах отечественного и европейского происхождения, обладающих функциональными свойствами [13].

Равновесные концентрации полифенолов водно-этанольных экстрактов выжимки, гребней, семян винограда достигают величин 1.6–86.8 г/дм³ по Фолину-Чокальтеу при высоком показателе антиоксидантной активности 1.3–99.1 г/дм³ по тролоксу. Рассчитанные по уравнению (1) величины технологического запаса фенольных веществ (ТЗФВ) составили 2.5–76.1 г/кг сухой массы выжимки, гребней, семян. Можно полагать, что водно-этанольные экстракты твердых частей виноградной грозди является перспективным сырьем для получения функциональных продуктов на основе полифенолов винограда, учитывая, рекомендуемое суточное адекватное потребление взрослым человеком комплекса полифенолов винограда 0.48 г [2].

Выводы

Полифенолы сусле, водно-этанольных экстрактов выжимки, гребней, семян виноградной грозди, исследованных белых и красных сортов винограда технологической зрелости представлены флавоноидными и нефлавоноидными мономерами, проантоцианидинами олигомерной и полимерной структуры, при этом большую часть комплекса фенольных веществ (64.9–96.9%) составляют проантоцианидины. Содержание

полифенолов в сусле виноградной ягоды многократно уступает концентрациям фенольных веществ в равновесных водно-этанольных экстрактах выжимки, гребней, семян, что свидетельствует о преимущественной локализации комплекса полифенолов в твердых частях виноградной грозди.

Технологический запас фенольных веществ в выжимке, гребнях, семенах, извлекаемый одностадийной водно-этанольной экстракцией при высоком показателе антиоксидантной активности, позволяет применять твердые части виноградной грозди исследованных сортов как возобновляемый надежный источник полифенолов для производства на их основе функциональных пищевых продуктов.

Список литературы

1. Fontes N., Côte-Real M., Geros H. New Observations on the Integrity, Structure, and Physiology of Flesh Cells from Fully Ripened Grape Berry // *J. Enol. Vitich.* 2011. Vol. 62. Pp. 270–278.
2. Единые санитарные эпидемиологические и гигиенические требования к товарам. Подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю). М., 2010. 707 с.
3. Сокуренок М.С., Соловьева Н.Л., Бессонов В.В., Мазо В.К. Полифенольные соединения класса стильбеноидов: классификация, представители, содержание в растительном сырье: особенности структуры, использование в пищевой промышленности и фармации // *Вопросы питания.* 2019. Т. 88. №1. С. 17–25. DOI: 10/24411/0042-8833-2019-10002.
4. Flamini R., Mattivi F., De Rosso M., Arapitsas P., Bavaresco L. Advanced Knowledge of Three Important Classes of Grape Phenolics: Anthocyanins, Stilbenes and Flavonols // *Int. J. Mol. Sci.* 2013. Vol. 14. Pp. 19651–19669.
5. Teixeira A., Eiras-Dias J., Kastellarin S., Geros H. Berry Phenolics of Grapevine under Challenging Environments // *J. Mol. Sci.* 2013. Vol. 14. Pp. 18711–18739.
6. Fujita A., Soma N., Goto-Yamamoto N. Anthocyanidin Reductase Gene Expression and Accumulation of Flavan-3-ols in Grape Berry // *American Journal of Enology and Viticulture.* 2005. Vol. 56. Pp. 336–342.
7. ГОСТ Р 54059-2010. Продукты пищевые функциональные. Ингредиенты пищевые функциональные. Классификация и общие требования. М., 2011. 11 с.
8. Masquelier J. Effects physiologiques du vin.- sa part dans l'alcoolisme // *Bull. IOIV.* 1988. Vol. 61. Pp. 689–690.
9. Kanner J., Frankek E., Granit R., Kanner J. Natural antioxidants in grapes and wines // *J. Agric. Food Chem.* 1994. Vol. 42. Pp. 64–69.
10. Sikuten I., Stambuk P., Andabaka Z., Tomaz I., Markovic Z., Stupic D., Maletic., Kontic J., Preiner D. Grapevine as a Rich Source of Polyphenolic Compounds // *Molecules.* 2020. Vol. 25. Pp. 5604–5647.
11. Daus D.K., Sato M., Ray P.S. Cardioprotection of red wine: role of polyphenolic antioxidants // *Drugs Exp. Clin Res.* 1999. Vol. 25. Pp. 115–122.
12. Арпентин Г.Н. Основы технологии столовых вин с повышенной пищевой ценностью и их медико-биологическая оценка: дисс. ... доктора техн. наук. Ялта, 1994. 320 с.
13. Маркосов В.А., Агеева Н.М. Биохимия. Технология и медико-биологические особенности красных вин. Краснодар, 2008. 224 с.
14. Батькова И.А., Макарова Н.В., Яшина И.А., Новикова М.Н., Смирнова Н.В. Получение экстрактов выжимок и семян винограда с антиоксидантным действием // *Виноделие и виноградарство.* 2014. №1. С. 33–35.
15. Загайко А.Л., Красильникова О.А., Кравченко А.Б., Волощенко М.В., Огай Ю.А., Соловьева Л.М., Мизин В.И., Богадельников И.В. Биологические активные вещества винограда и здоровье: монография. Харьков, 2012. 404 с.
16. Кубышкин А.В., Авидзба А.М., Борисюк В.С., Стоянов В.С., Фомочкина И.И., Огай Ю.А., Черноусова И.В., Зайцев Г.П., Гулущкина Т.И., Маркосов В.А., Агеева Н.М., Шрамко Ю.И. Полифенолы винограда красных сортов в вине и концентратах для применения в реабилитационных технологиях // *Сельскохозяйственная биология.* 2017. Т. 52. №3. С. 622–630. DOI: 10.15389/agrobiology.2017.3.622rus.
17. Скрыгин В.Г., Кушнерова Н.Ф., Гордейчук Т.Н., Фоменко С.Е. Стресспротекторное действие Диприма // *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2002. Т. 65. №4. С. 56–58.
18. Остроухова Е.В., Пескова И.В., Рыбалко Е.А., Гвардовская Л.Б. Влияние климатических факторов на технологические характеристики винограда красных сортов, произрастающих в различных регионах Республики Крым // *Магарач. Виноградарство и виноделие.* 2015. №2. С. 28–31.
19. Черноусова И.В., Зайцев Г.П., Гришин Ю.В., Мосолкова В.Е., Огай Ю.А., Фомочкина И.И. Биологическая активность полифенолов винограда красных вин и концентратов при реабилитации больных ишемической болезнью сердца и гипертонической болезнью // *Магарач. Виноградарство и виноделие.* 2018. Т. 47. С. 63–68.
20. Агеева Н.М., Чемисова Л.Э., Маркосов В.А., Огай Ю.А., Черноусова И.В., Зайцев Г.П. Исследование состава фенольного комплекса красных сортов винограда, произрастающего в Республике Крым и Краснодарском крае // *Плодоводство и виноградарство Юга России.* 2016. №37 (01). С. 1–10.
21. Панасюк А.Л., Жирова В.В., Михайлов И.О. Панасюк А.Л., Жирова В.В., Михайлов И.О., Романюк Н.М., Никулина Е. Экстракция фенольных соединений из виноградных семян // *Виноделие и виноградарство.* 2003. №1. С. 36–37.
22. Руководство Р 4.1.1672-03. Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище. М., 2004. 240 с.

23. ГОСТ Р 54037-2010. Продукты пищевые. Определение содержания водорастворимых антиоксидантов амперометрическим методом в овощах, фруктах, продуктах их переработки, алкогольных и безалкогольных напитках. М., 2011. 11 с.
24. Лакин Г.Ф. Биометрия: учеб. пособие для биол. спец. вузов. М., 1990. 352 с.

Поступила в редакцию 7 июля 2021 г.

После переработки 26 апреля 2022 г.

Принята к публикации 29 апреля 2022 г.

Для цитирования: Черноусова И.В., Мосолкова В.Е., Зайцев Г.П., Гришин Ю.В., Жилиякова Т.А., Огай Ю.А. Полифенолы виноградной грозди, качественный и количественный состав, технологический запас // Химия растительного сырья. 2022. №3. С. 291–300. DOI: 10.14258/jcprm.2022039811.

Chernousova I.V.^{1}, Mosolkova V.E.¹, Zaitsev G.P.¹, Grishin Yu.V.¹, Zhilyakova T.A.¹, Ogay Yu.A.² GRAPE BUNCH POLYPHENOLS, QUALITATIVE AND QUANTITATIVE COMPOSITION, TECHNOLOGICAL STOCK*

¹ All-Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking "Magarach" of RAS, ul. Kirova, 31, Yalta, 298600 (Russia), e-mail: cherninna1@mail.ru

² "RESSFUD" Limited Liability Company, ul. Makarenko 15/3, Yalta, 298612 (Russia)

The Magarach Institute has been addressing the issue of developing technologies for obtaining functional food products from grapes saturated with grape polyphenols; and of determining main properties and modes of grape polyphenol extraction from potential raw materials (pomace, seeds, crests) for the production of experimental samples of functional products.

The aim of the present research was not only to experimentally determine the total stock of polyphenols in pomace, seeds, crests of red and white grape varieties, but also to assess empirically the qualitative and quantitative composition of total polyphenols in pomace, seeds, stems, vines, leaves of red and white grape varieties as functional components of a healthy nutrition.

The research has dwelled upon the empiric assessment of the characteristics of grape raw materials (grape must, pomace, seeds, crests) in terms of their technological stock, quantitative and qualitative composition of polyphenols (by HPLC), and the main functional ingredients of the biological activity of grape products. An analysis of the data obtained shows that the aqueous-alcoholic extracts of grape raw materials possess the whole spectrum of polyphenols typical for red grape wines (anthocyanins, flavones, flavan-3-ols, hydroxycinnamic, hydroxybenzoic acids, stilbenes, oligomeric and polymeric procyanidins), however their concentration quantitatively exceeds that found in wines.

It has been shown that the total content of water-soluble antioxidants experimentally determined by the amperometric method depends on the content of oligomeric and polymeric procyanidins in the extracts of grape raw materials. Thus, the content of oligomeric procyanidins in the extracts of grape raw materials from the sum of phenolic substances averaged 5.7%; while the content of polymer procyanides went up to 94%. The technological availability of polyphenols of pomace, stalks and grape seeds during water-alcohol extraction in the piled layer without mixing was shown, the equilibrium concentrations of polyphenols transferred into the extract and the potential amounts of polyphenols extracted during single-stage extraction (technological stock) were assessed. The maximum values of technological stock of polyphenols of 29.2–76.02 g/kg dry weight in the stalks of white and red grape varieties were determined.

Keywords: grape, extraction, technological stock, polyphenols, antioxidants.

* Corresponding author.

References

1. Fontes N., Côte-Real M., Geros H. *J. Enol. Vitich.* 2011, vol. 62, pp. 270–278.
2. *Yedinye sanitarnyye epidemiologicheskiye i gigiyenicheskiye trebovaniya k tovaram. Podlezhashchim sanitarno-epidemiologicheskomu nadzoru (kontrolyu)*. [Uniform sanitary epidemiological and hygienic requirements for goods. Subject to sanitary and epidemiological supervision (control)]. Moscow, 2010, 707 p. (in Russ.).
3. Sokurenko M.S., Solov'yeva N.L., Bessonov V.V., Mazo V.K. *Voprosy pitaniya*, 2019, vol. 88, no. 1, pp. 17–25. DOI: 10/24411/0042-8833-2019-10002. (in Russ.).
4. Flamini R., Mattivi F., De Rosso M., Arapitsas P., Bavaresco L. *Int. J. Mol. Sci.*, 2013, vol. 14, pp. 19651–19669.
5. Teixeira A., Eiras-Dias J., Kastellarin S., Geros H. *J. Mol. Sci.*, 2013, vol. 14, pp. 18711–18739.
6. Fujita A., Soma N., Goto-Yamamoto N. *American Journal of Enology and Viticulture*, 2005, vol. 56, pp. 336–342.
7. *GOST R 54059-2010. Produkty pishchevyye funktsional'nyye. Ingrediyenty pishchevyye funktsional'nyye. Klassifikatsiya i obshchiye trebovaniya*. [GOST R 54059-2010. Functional food products. Functional food ingredients. Classification and general requirements]. Moscow, 2011, 11 p. (in Russ.).
8. Masquelier J. *Bull. IOIV*, 1988, vol. 61, pp. 689–690.
9. Kanner J., Frankek E., Granit R., Kanner J. *J. Agric. Food Chem.*, 1994, vol. 42, pp. 64–69.
10. Sikuten I., Stambuk P., Andabaka Z., Tomaz I., Markovic Z., Stupic D., Maletic., Kontic J., Preiner D. *Molecules*, 2020, vol. 25, pp. 5604–5647.
11. Daus D.K., Sato M., Ray P.S. *Drugs Exp. Clin Res.*, 1999, vol. 25, pp. 115–122.
12. Arpentin G.N. *Osnovy tekhnologii stolovykh vin s povyshennoy pishchevoy tsennost'yu i ikh mediko-biologicheskaya otsenka: diss. ... doktora tekhn. nauk*. [Fundamentals of the technology of table wines with high nutritional value and their medical and biological assessment: diss. ... doctor of tech. Sciences]. Yalta, 1994, 320 p. (in Russ.).
13. Markosov V.A., Ageyeva N.M. *Biokhimiya. Tekhnologiya i mediko-biologicheskiye osobennosti krasnykh vin*. [Biochemistry. Technology and biomedical features of red wines]. Krasnodar, 2008, 224 p. (in Russ.).
14. Bat'kova I.A., Makarova N.V., Yashina I.A., Novikova M.N., Smirnova N.V. *Vinodeliye i vinogradarstvo*, 2014, no. 1, pp. 33–35. (in Russ.).
15. Zagayko A.L., Krasil'nikova O.A., Kravchenko A.B., Voloshchenko M.V., Ogay Yu.A., Solov'yeva L.M., Mizin V.I., Bogadel'nikov I.V. *Biologicheskiye aktivnyye veshchestva vinograda i zdorov'ye: monografiya*. [Biological active substances of grapes and health: monograph]. Khar'kov, 2012, 404 p. (in Russ.).
16. Kubyshkin A.V., Avidzba A.M., Borisyuk V.S., Stoyanov V.S., Fomochkina I.I., Ogay Yu.A., Chernousova I.V., Zaytsev G.P., Guguchkina T.I., Markosov V.A., Ageyeva N.M., Shramko Yu.I. *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya*, 2017, vol. 52, no. 3, pp. 622–630. DOI: 10.15389/agrobiology.2017.3.622rus. (in Russ.).
17. Skrygin V.G., Kushnerova N.F., Gordeychuk T.N., Fomenko S.Ye. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*, 2002, vol. 65, no. 4, pp. 56–58. (in Russ.).
18. Ostroukhova Ye.V., Peskova I.V., Rybalko Ye.A., Gvardovskaya L.B. *Magarach. Vinogradarstvo i vinodeliye*, 2015, no. 2, pp. 28–31. (in Russ.).
19. Chernousova I.V., Zaytsev G.P., Grishin Yu.V., Mosolkova V.Ye., Ogay Yu.A., Fomochkina I.I. *Magarach. Vinogradarstvo i vinodeliye*, 2018, vol. 47, pp. 63–68. (in Russ.).
20. Ageyeva N.M., Chemisova L.E., Markosov V.A., Ogay Yu.A., Chernousova I.V., Zaytsev G.P. *Plodovodstvo i vinogradarstvo Yuga Rossii*, 2016, no. 37 (01), pp. 1–10. (in Russ.).
21. Panasyuk A.L., Zhirona V.V., Mikhaylov I.O. Panasyuk A.L., Zhirona V.V., Mikhaylov I.O., Romanyuk N.M., Nikulina Ye. *Vinodeliye i vinogradarstvo*, 2003, no. 1, pp. 36–37. (in Russ.).
22. *Rukovodstvo R 4.1.1672-03. Rukovodstvo po metodam kontrolya kachestva i bezopasnosti biologicheskii aktivnykh dobavok k pishche*. [Guide R 4.1.1672-03. Guidance on methods of quality control and safety of biologically active additives to food]. Moscow, 2004, 240 p. (in Russ.).
23. *GOST R 54037-2010. Produkty pishchevyye. Opredeleniye sodержaniya vodorastvorimykh antioksidantov amperometriceskim metodom v ovoshchakh, fruktakh, produktakh ikh pererabotki, alkogol'nykh i bezalkogol'nykh napitkakh*. [GOST R 54037-2010 Food products. Determination of the content of water-soluble antioxidants by the amperometric method in vegetables, fruits, products of their processing, alcoholic and non-alcoholic drinks]. Moscow, 2011, 11 p. (in Russ.).
24. Lakin G.F. *Biometriya: ucheb. posobiye dlya biol. spets. vuzov*. [Biometrics: textbook. allowance for biol. specialist. universities]. Moscow, 1990, 352 p. (in Russ.).

Received July 7, 2021

Revised April 26, 2022

Accepted April 29, 2022

For citing: Chernousova I.V., Mosolkova V.E., Zaitsev G.P., Grishin Yu.V., Zhilyakova T.A., Ogay Yu.A. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2022, no. 3, pp. 291–300. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2022039811.