

Ученые записки Крымского федерального университета им. В. И. Вернадского
Серия «Биология, химия». Том 1 (67). 2015. № 1. С. 183–190.

УДК 634.85:631.526.32/663.2

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОМПОНЕНТНОГО СОСТАВА ВИНМАТЕРИАЛА ИЗ НОВОГО КРАСНОГО СОРТА ВИНОГРАДА «КАФА» МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Аристова Н. И.¹, Разгонова О. В.¹, Панов Д. А.², Зайцев Г. П.¹, Семенчук А. В.¹

¹Государственное бюджетное учреждение Республики Крым «ННИИВиВ «Магарач», Ялта, Республика Крым

*²Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым
E-mail: panovda@crimea.edu*

С помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) установлено, что винматериал из винограда красного сорта «Кафа» содержит значительные количества биологически активных веществ: органических кислот и различных групп фенольных соединений.

Ключевые слова: органические кислоты, фенольные соединения, сорт винограда, высокоэффективная жидкостная хроматография, биологически активные вещества, винматериал.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что на биохимический состав вина и его качество оказывают влияние не только агротехника, генетические особенности сорта, степень его зрелости, но и почвенные и климатические факторы [1–2]. Из технических сортов винограда готовят разнообразные вина, органолептические характеристики которых, даже из одного и того же сорта, произрастающего в разных климатических зонах, могут отличаться. Опыт мирового виноградарства показывает, что количество и качество урожая винограда определяются правильным подбором сортов для каждой конкретной агроклиматической зоны. Проблема исследования возможности использования новых красных технических сортов винограда для производства вин остается актуальной из-за высокого спроса на высококачественную биологически ценную продукцию с уникальными вкусовыми, ароматическими и энотерапевтическими свойствами в конкретной местности возделывания винограда [2–4].

Новый красный сорт винограда «Кафа», сочетающий в себе высокие товарные и вкусовые качества, повышенную продуктивность, стабильность продуктов переработки, повышенную устойчивость к болезням и вредителям был получен в институте «Магарач» под руководством доктора биологических наук, профессора,

генетика-селекционера М.В. Мелконяна, которым также были разработаны теоретические основы гетерозиса у винограда. Методика селекционной работы была направлена на повышение содержания в ягодах винограда сахаров, красящих веществ, витаминов группы В, аминокислот, свободных катехинов и хлорогеновой кислоты в связи с генетическими особенностями исходных форм, метаболизмом в органах лозы и интенсивностью фотосинтеза [5].

Целью данной работы явилось изучение компонентного состава виноматериалов, полученных из нового красного сорта винограда «Кафа», методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В период с 2006 по 2014 гг. сотрудники научно-исследовательского института «Магарач» проводили фенологические наблюдения и агробиологические исследования, изучали хозяйственно-ценные показатели нового технического красного сорта «Кафа», выращенного в условиях Западной предгорно-приморской зоны виноградарства Республики Крым (Россия) [5–8]. Из урожая этого винограда готовили виноматериалы (десертные), отмеченные на дегустациях высокими оценками (7,77–7,80). Окраска – от темно-рубинового до темно-гранатового цвета. В аромате – ягодно-плодовые, молочно-шоколадные, пряные оттенки, переходящие во вкус. Вкус сложный с тонами черной смородины, чернослива, вишни, шелковицы, шоколада, карамели, молочных сливок. Исследуемые образцы десертного виноматериала были получены методом микровиноделия из винограда сорта «Кафа» «по красному способу». При его приготовлении производили подогрев мезги до температуры 60°C, с последующим настаиванием и брожением мезги, прессованием ее, спиртованием полученной жидкой фазы экспериментального образца до соответствующих кондиций [9–11].

Определение содержания глюкозы и фруктозы в виноматериале проводили согласно ГОСТу 31669-2012, индивидуальные органические кислоты – по ГОСТу 32771-2014. Массовые концентраций фенольных веществ определяли методом ВЭЖХ с помощью хроматографической системы Agilent Technologies (модель 1100) с диодно-матричным детектором. В работе использовали хроматографическую колонку Zorbax SB-C18 размером 2,1x150 мм, заполненную силикагелем с привитой октадецилсилильной фазой с размером частиц сорбента 3,5 мкм. Элюирование проводили в градиентном режиме. Скорость потока элюента 0,25 см³/мин. Для построения градиента использовали: раствор А – элюент 1; раствор В – 0,6%-ный водный раствор трифторуксусной кислоты. Объем вводимой пробы составлял 1 мкл. Регистрацию хроматограмм осуществляли по оптическому поглощению элюата при длинах волн: 280 нм – для (+)-D-катехина, (-)-эпикатехина, галловой кислоты и процианидинов; 313 нм – для производных оксикоричных кислот; 371 нм – для кверцетина. Ряд компонентов идентифицировали по их спектральным характеристикам и времени удержания пика. Спектральные характеристики пиков сопоставляли со спектрами индивидуальных веществ, данными литературных источников [12–16] и библиотеки спектров. Расчет количественного содержания индивидуальных компонентов производили с использованием градуировочных графиков зависимости

площади пика от концентрации вещества, построенных по растворам индивидуальных веществ. Для определения антоцианов использовали хроматографическую колонку Zorbax SB-C18 размером 3,0x250 мм, заполненную силикагелем с размером частиц 5 мкм, скорость потока элюента – 0,40 см³/мин, объем пробы – 5 мкл. Регистрацию оптических спектров поглощения проводили в видимой области 510–540 нм. Содержание антоцианов рассчитывали в пересчете на моногликозид мальвидина, содержание производных оксикоричных кислот – в пересчете на кофейную кислоту, содержание процианидинов – в пересчете на (+)-D-катехин.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Биохимический состав вина и его качество зависят от генетических особенностей сорта, почвенно-климатических условий местности культивирования, правильно подобранных, а также часто и индивидуальных технологий переработки продукции.

Методом ВЭЖХ был проведен анализ виноматериала, полученного из нового красного сорта винограда «Кафа». Результаты проведенных исследований приведены в таблице 1.

Таблица 1

Химический состав виноматериала из винограда «Кафа»

№ п/п	Наименование показателя	Ед. изм.	Значение
1	Массовая концентрация глицерина	г/дм ³	8,69
2	Массовая концентрация сахаров: глюкозы фруктозы	г/дм ³	157,8 66,0 91,8
3	Массовая концентрация органических кислот: малеиновая кислота фумаровая кислота лимонная кислота винная кислота яблочная кислота уксусная кислота молочная кислота	г/дм ³	8,2852 0,0030 0,0022 0,4100 6,0000 1,3600 0,2500 0,4600

В экспериментальном десертном образце виноматериала выявлены значительные концентрации природных сахаров винограда: глюкозы (66,0 г/дм³) и фруктозы (91,8 г/дм³), играющих важную пищевую и энергетическую роль в вине. Определена массовая концентрация глицерина (8,69 г/дм³), являющегося важнейшей составной частью экстракта вина, благоприятно влияющей на вкус, придавая ему особую полноту и мягкость.

Известна роль органических кислот в формировании вкуса, диетических свойств вин; они выполняют важную роль в биохимических процессах первичного и вторичного виноделия (совместно с этиловым спиртом предохраняют вино от бактериальных «заболеваний», повышают стойкость к помутнениям и так далее). В

исследуемом виноматериале концентрации органических кислот составили: винной – 6,0 г/дм³, яблочной – 1,36 г/дм³, молочной – 0,46 г/дм³, лимонной – 0,41 г/дм³.

В ходе исследования образца виноматериала из винограда сорта «Кафа» был определен качественный и количественный состав мономерных форм фенольных соединений: катехинов, оксибензойных и оксикоричных кислот, флавонолов, процианидинов (Табл. 2).

Таблица 2
Определение массовых концентраций фенольных соединений в виноматериале

Наименование показателя		Масс. конц. мг/дм ³
Катехины	(+)-D-катехин	46,3
	(-)-эпикатехин	56,3
Оксибензойные кислоты	Галловая кислота	25,0
	Сиреневая кислота	6,5
Оксикоричные кислоты	Кафтаровая кислота	107,1
	Каугаровая кислота	22,4
Флаванолы	Кверцетин	3,9
	Кверцетин-3-О-гликозид	53,4
Процианидины	Олигомерные процианидины	360
	Полимерные процианидины	4248

Идентифицированы (+)-D-катехин (46,3 мг/ дм³) и (-)-эпикатехин (56,3 мг/дм³), обладающие наибольшей антиоксидантной активностью среди фенольных соединений. Согласно литературным источникам, важнейшим свойством катехинов является их способность нормализовать структуру белка организма человека – коллагена, обеспечивающего прочность артерий. Катехины обладают высокой Р-витаминной активностью, атеросклеротическими свойствами и способствуют усвоению аскорбиновой кислоты организмом человека [17, 18].

В экспериментальном образце виноматериала концентрации галловой и сиреневой кислот составили соответственно 25,0 мг/дм³ и 6,5 мг/дм³; оксикоричных кислот кафтаровой и каугаровой – соответственно 107,1 мг/дм³ и 22,4 мг/дм³. Их биологическая активность проявляется в снижении уровня холестерина в крови организма человека.

Значение массовых концентраций флавонолов в исследуемом виноматериале достигло 57,3 мг/дм³, в том числе кверцетин-3-О-гликозида (53,4 мг/дм³) и кверцитина (3,9 мг/дм³), которые обладают антиоксидантными свойствами, укрепляют кровеносные сосуды, защищают сердечную мышцу от холестерина, тормозят старение клеток организма человека.

В виноматериале из сорта винограда «Кафа» определены олигомерные (360 мг/дм³) и полимерные (4248 мг/дм³) процианидины. Данные вещества – полимерные формы фенольных соединений, мощные антиоксиданты (их действие в 20 раз эффективнее аскорбиновой кислоты и в 50 раз – витамина Е). В настоящее время процианидины широко распространяют в Европе как натуральные биологические

добавки с антиоксидантным эффектом (большая часть их изготавливается из косточек винограда) [19].

Антоцианы – пигменты растений, являющиеся основными красящими веществами винограда, – максимально переходят в вина при переработке по красному способу. Входят в основной состав фенольного комплекса красных сортов. Антоцианы присутствуют в винограде и вине в форме гликозидов, главным образом 3-моногликозидов, реже – 3,5-дигликозидов и 3-биозидов. В процессе брожения на мезге в виноматериал переходят около 50 % антоцианов винограда, при нагреве мезги – до 90%. У большинства красных сортов винограда антоцианы располагаются только в кожице ягод, у отдельных сортов – окрашен сок. Исследуемый сорт винограда «Кафа» имеет интенсивно окрашенные сок и мякоть. Основная задача виноделия «по красному» способу – извлечь антоцианы из кожицы винограда в сусло и виноматериал и сохранить эту окраску. Антоцианы обладают Р-витаминным действием, а также сильным бактерицидным эффектом, антиоксидантной, противораковой активностью, положительно влияют на кроветворную функцию костного мозга, проницаемость капилляров и обладают рядом других уникальных свойств [17]. Они замедляют жизнедеятельность винных дрожжей *Saccharomyces vini* и пленчатых дрожжей *Candida mycoderma*, придают вину окраску, органолептические свойства [20]. В связи с этим исследуемый образец виноматериала готовили с использованием технологии переработки «по красному» способу с предварительным нагревом мезги и последующим настаиванием на ней для повышения эффективности процесса экстракции фенольных и красящих веществ.

Значения массовых концентраций идентифицированных отдельных антоцианов в виноматериале сорта «Кафа» представлены в таблице 3, сумма идентифицированных антоцианов составила 63,9 мг/дм³.

Таблица 3

Определение массовых концентраций антоцианов в виноматериале

Наименование показателя	Массовая концентрация, мг/дм ³
Мальвидин-3-О-гликозид	19,6
Мальвидин-3-О-(6'-ацетил-гликозид)	0,9
Мальвидин-3-О-(6'-п-кумароил-гликозид)	3,7
Дельфинидин-3-О-гликозид	6,3
Дельфинидин-3-О-(6'-ацетил-гликозид)	10,1
Петунидин-3-О-гликозид	5,7
Пенунидин-3-О-(6'-ацетил-гликозид)	0,5
Петунидин-3-О-(6'-п-кумароил-гликозид)	1,3
Пеонидин-3-О-гликозид	7,8
Пеонидин-3-О-(6'-ацетил-гликозид)	3,1
Цианидин-3-О-гликозид	3,5
Цианидин-3-О-(6'-ацетил-гликозид)	1,4
Сумма идентифицированных антоцианов	63,9

В исследуемом образце виноматериала из нового сорта винограда «Кафа» не был обнаружен мальвидин-3,5-дигликозид, уровень которого строго контролируется при отправке винопродукции на экспорт. Данный факт свидетельствует об отсутствии в геноме исследуемого сорта винограда «Кафа» американских сортов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании данных химического и биохимического состава виноматериала из нового красного сорта винограда «Кафа», а также благодаря обширным агробиологическим исследованиям можно дать объективную оценку новому красному сорту и рекомендовать его для приготовления высококачественных десертных вин при возделывании в Западной предгорно-приморской зоне виноградарства Крыма и близких к ней по почвенно-климатическим факторам регионов России.

Список литературы

1. Дергунов А. В. Влияние особенностей новых красных сортов винограда на биохимический состав и качество вин / А. В. Дергунов // Виноградарство и виноделие: Сб. научных трудов НИВиВ «Магарач». – Ялта. – 2015. – Том. XLV. – С. 75–79.
2. Дергунов А. В. Влияние сортовых особенностей винограда на биохимические составляющие и качество вин / А. В. Дергунов, Т. И. Гугучкина // Виноделие и виноградарство. – 2014. – №2. – С. 16–20.
3. Дженеев С. Ю. Вино – восьмое чудо света / С.Ю. Дженеев, Ю.С. Дженеев. – Ялта, 1998. – 16 с.
4. Энциклопедия виноградарства в 3-х томах. Т.2. / [Гл. ред А.И. Тимуш]. – Кишинев: Молд. Сов Энциклопедия, 1986. – 504 с.
5. Мелконян М. В. Методика ампелографического описания и агробиологической оценки винограда / М. В. Мелконян, В. А. Волынкин. – Ялта: ИВиВ «Магарач», 2002. – 27 с.
6. Лазаревский М. А. Изучение сортов винограда / М. А. Лазаревский. – Ростов-на-Дону: Ростовский университет, 1963. – 152 с.
7. Мелконян М. В. Прохождение фенологических фаз роста и развития сортами винограда новейшей селекции Праздничный Магарач, Кафа, Ай-Петри и Перлинка в условиях предгорной зоны Крыма / М. В. Мелконян, О. В. Разгонова. – Научные труды крымского государственного агротехнологического университета, Сельскохозяйственные науки. – 2005. – Выпуск 90. – С. 45–55.
8. Мелконян М. В. Результат ступенчатой селекции винограда / М. В. Мелконян, Л. А. Чекмарев, О.А. Бойко, Н. Л. Студенникова [и др.] // «Магарач». Виноградарство и виноделие. – 2001. – №1. – С. 7–10.
9. Методические рекомендации по технологической оценке, сортов винограда для виноделия. / Г. Г. Валуйко, Е. П. Шольц, Л. П. Трошин. – ВНИИВиВ «Магарач», 1983. – 72 с.
10. Справочник по виноделию / [Под ред. Г. Г. Валуйко, В.Т. Косюры], (2-е изд). – Симферополь: Таврида, 2000. – 624 с.
11. Методы теххимического и микробиологического контроля в виноделии / [Под ред. В. Г. Гержиковой]. – Симферополь: Таврида, 2002. – 259 с.
12. Зайцев Г. П. Фенольный состав винограда сорта Каберне-Совиньон Республики Крым / Г. П. Зайцев, В. Е. Мосолкова, Ю. В. Гришин, Ю. А. Огай // Магарач. Виноградарство и виноделие. – 2014. – № 4. – С. 28–30.
13. Bagchi D. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract importance in human health and disease prevention / D. Bagchi, M. Bagchi, S.J. Stohs, D.K. Das [et al.] // Toxicology. – 2000. – Vol. 148. – P. 187–197.

14. Ahmad N. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate differentially modulates nuclear factor kB in cancer cells versus normal cells / N. Ahmad, S. Gupta, H. Mukhtar // Archives of Biochemistry and Biophysics. – 2000. – Vol. 376. – P. 338–346.
15. Bagchi D. Molecular mechanisms of cardioprotection by a novel grape seed proanthocyanidin extract / D. Bagchi, C.K. Sen, S.D. Ray, K. Dipak // Mutation Research. – 2003. – Vol. 523. – P. 87–97.
16. Woodring P. J. HPLC determination of nonflavonoid phenols in vidal blanc wine using electrochemical detection / P. J. Woodring, P. A. Edwards, M. G. Chisholm // J.Agric. Food Chem. – 1990. – Vol. 38. – P. 729–732.
17. Валу́йко Г. Г. Вино и здоровье / Г. Г. Валу́йко. – Симферополь: Таврида, 2007. – 156 с.
18. Авидзба А. М. Биологическая активность продуктов переработки винограда новой селекции / А. М. Авидзба, Ю. А. Огай, В. А. Волынкин, С. В. Левченко [и др.] // Магарач, Виноградарство и виноделие. – 2007. – №1. – С. 19–22.
19. Corder R. Oenology: Red wine procyanidins and vascular health / R. Corder, W. Mullen, N.Q. Khan, S. C. Marks [et al.] // Nature. – 2006. – Vol. 444, Issue 7119. – P. 566.
20. Энциклопедия виноградарства в 3-х томах Т.1. / [Гл. ред А.И. Тимуш]. – Кишинев: Молд. Сов Энциклопедия, 1986. – 512 с.

DETERMINATION OF WINE MATERIALS COMPONENTS FROM “KAFA” NEW RED VARIETY OF VINE BY THE HIGH-EFFICIENCY LIQUID CHROMATOGRAPHY

Aristova N. I.¹, Razgonova O. V.¹, Panov D. A.², Zaitsev G. P.¹, Semenchouk A. V.¹

¹Government-Financed Establishment of the Republic of the Crimea “National Research Institute for Vine and Wine “Magarach”, Crimea

²V.I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea

E-mail: panovda@crimea.edu

World experience of a viticulture shows that the quantity and quality of the crop of grapes determines the correct selection of varieties for particular agro-climatic zones.

The problem of studying the possibility of using the new red wine varieties of grapes for wine production remains relevant because of the high demand for high-quality, biologically valuable products with unique flavouraromatic and enotherapeutic properties in a specific area of grapes cultivation.

New red grape variety of “Kafa” was received at the Institute “Magarach” under the leadership of doctor of biological Sciences, professor, plant breeder-geneticist M. V. Melkonyan, and combining high commodity and taste, higher productivity, and stability of processed products, higher resistance to diseases and pests.

The aim of this work was studying of the composition of wine materials obtained from grape “Kafa” by high performance liquid chromatography (HPLC).

In the period from 2006 to 2014 it was carried out phenological observations and agrobiological research, studied the agronomic performance of the new technical “Kafa” the red varieties grown in the Western mount-coastal zone of viticulture of the Crimea (Russian Federation).

The studied samples of the sweet wine material were produced of micro-winemaking from grapes Kafe by the “red way” method. Determination of the mass concentration of phenolic substances, organic acids, glycerol, glucose, and fructose was carried out by

HPLC. A significant concentration of natural grape sugars: glucose (66.0 g/dm³) and fructose (91.8 g/dm³) and glycerol (8.69 g/dm³), which play an important nutritional role in wine. In the investigated wine materials the concentration of organic acids was: tartaric acid 6.0 g/dm³, malic acid – 1.36 g/dm³, lactic acid – 0.46 g/dm³ and citric acid – 0.41 g/dm³. The values of the mass concentrations of flavonols, oxybenzoic acids, gallic acid and syringic acid, as well as procyanidins and anthocyanins was determined.

Keywords: organic acids, phenolic compounds, grape variety, high performance liquid chromatography, biologically active substances, wine.

References

1. Dergunov A.V., The influence of new red grape varieties on biochemical composition and quality of wines, *Viticulture and winemaking: Sat.scientific papers "Magarach"*, **XLV**, 75 (2015).
2. Dergunov A.V., Guguchkina T.I., The effect of the varietal characteristics of grapes on biochemical constituents and quality wines, *Wine and viticulture*, **2**, 16 (2014).
3. Dzheneev S.Ju., Dzheneev Ju.S., *Wine – the eighth wonder of the world*, 16 p. (Yalta, 1998).
4. *Encyclopedia of viticulture in 3 volumes*, Ch. Ed. A.I. Timush, Vol. 2, 504 p. (Mold. Soviet Encyclopedia, Kishinev, 1986).
5. Melkonjan M.V., Volynkin V.A., *Method's ampelographic description and evaluation of agrobiological grapes*, 27 p. (The Institute "Magarach", Yalta, 2002).
6. Lazarevskij M.A., *The study of grape varieties*, 152 p. (Rostov University, Rostov-na-Donu, 1963).
7. Melkonjan M.V., Razgonova O.V., Passage of phenological phases of growth and development of the latest varieties of grapes selection Holiday Magaracha, Kafa, the Ai-Petri and Perlinka in the conditions of a foothill zone of Crimea, *Scientific works of the Crimean State Agrotechnological University, Agricultural Sciences*, **90**, 45 (2005).
8. Melkonjan M.V., Chekmarev L.A., Bojko O.A., Studennikova N.L., Razgonova O.V., The result of stepwise selection of grapes, "Magarach". *Viticulture and winemaking*, **1**, 7 (2001).
9. Valujko G.G., Shol'c E.P., Troshin L.P., *Guidelines on the assessment process, grapes for winemaking*, 72 p. («Magarach», 1983).
10. *Guide to Wine*, Ch. Ed. Valujko G.G., Kosjurov V.T., (2nd ed.), 624 p. (Turida, Simferopol, 2000).
11. Gerzhikovoij V.G., *Methods technochemical and microbiological control in winemaking*, 259 p. (Turida, Simferopol, 2002).
12. Zajcev G.P., Mosolkova V.E., Grishin Ju.V., Ogaj Ju.A., The phenolic composition of the Cabernet Sauvignon Republic of Crimea, *Magarach. Viticulture and winemaking*, **4**, 28 (2014).
13. Bagchi D., Bagchi M., Stohs S.J., Das D.K., Ray S.D., Kuszynski C.A., Joshi S.S., Pruess H.G., Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract importance in human health and disease prevention, *Toxicology*, **148**, 197 (2000).
14. Ahmad N., Gupta S., Mukhtar H., Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate differentially modulates nuclear factor kB in cancer cells versus normal cells, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **376**, 338 (2000).
15. Bagchi D., Sen C.K., Ray S.D., Dipak K., Bagchi M., Preuss H.G., Vinson J.A., Molecular mechanisms of cardioprotection by a novel grape seed proanthocyanidin extract, *Mutation Research*, **523**, 87 (2003).
16. Woodring P.J., Edwards P.A., Chisholm M.G., HPLC determination of nonflavonoid phenols in Vidal Blanc wine using electrochemical detection, *J.Agric. Food Chem.*, **38**, 729 (1990).
17. Valujko G.G., *Wine and Health*, 156 p (Turida, Simferopol, 2007).
18. Avidzba A.M., Ogaj Ju.A., Volynkin V.A., Levchenko S.V., The biological activity of the new products of processing grapes selection, *Magarach, viticulture and winemaking*, **1**, 19 (2007).
19. Corder R., Mullen W., Khan N.Q., Marks S.C., Wood E.G., Carrier M.J., Crozier A., Oenology: Red wine procyanidins and vascular health, *Nature*, **444** (7119), 566 (2006).
20. *Encyclopedia of viticulture in 3 volumes*, Ch ed A.I. Timush, Vol.1, 512 p. (Mold. Soviet Encyclopedia, Kishinev, 1986).

Поступила в редакцию 19.10.2015 г