

**Key words:** grape, sort, generative selection, adaptation, winter resistant, sortment.

УДК 634.86:547.973:577.127.4

*А. Э. Модонкаева,  
Е. А. Слатья,  
В. А. Бойко,  
Н. Н. Аппазова*

Национальный институт винограда и вина «Магарач»,  
Украина

#### **К ВОПРОСУ ОПТИМИЗАЦИИ ПРОЦЕССА РАЗДЕЛЕНИЯ АНТОЦИАНОВЫХ ПИГМЕНТОВ СТОЛОВОГО ВИНОГРАДА**

*Разработан новый подход комплексной оценки состава фенольных веществ столового винограда с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии. В статье приведены результаты оптимизации методов анализа и пробоподготовки виноградной ягоды для изучения состава фенольных соединений.*

**Ключевые слова:** столовый виноград, фенольные вещества, антоцианы, высокоэффективная жидкостная хроматография.

Важным компонентом химического состава столового винограда являются флавоноиды. Они играют доминирующую роль, как в обмене веществ, так и в формировании диетических свойств, окраски, вкусовых достоинств винограда. Практически все флавоноиды обладают Р-витаминной и антиокислительной активностью, являясь важнейшим регулятором протекающих внутриклеточных свободнорадикальных процессов [1–4]. Антоцианы, процианидины, катехины и флавонолы, характеризуясь небольшой молекулярной массой, являются наиболее важными флавоноидными соединениями виноградной ягоды и проявляют выраженную биологическую активность. Анализ этих групп соединений играет ключевую роль в определении качества столового винограда.

Весомые аргументы в пользу ключевой роли фенольных соединений, в том числе антоцианового комплекса, в проявлении биологической активности были получены благодаря исследованиям с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Многие годы основными методами выделения, очистки и концентрирования определяемых веществ были жидкостная экстракция, осаждение, центрифугирование, колоночная и тонкослойная хроматографии. Такая подготовка образцов является длительным и многоступенчатым процессом, требующим расхода большого количества особо чистых (не привносящих примесей) растворителей и реактивов, дополнительного оборудования и трудозатрат. С появлением оборудования для ВЭЖХ анализ фенольных соединений винограда стал более доступным и занимает значительно меньше времени [5,6]. В нашей работе мы усовершенствовали методы подготовки проб, а также качественного и количественного анализа соединений антоцианового комплекса столового винограда с использованием ВЭЖХ и добились существенного прогресса в идентификации состава антоцианового пигмента ягод окрашенных сортов винограда.

#### ***Объекты и методы исследования***

Объект исследования – сорт столового винограда среднепозднего срока созревания Молдова (9 бригада, ГП «Морское» НΠΑО «Массандра»).

Разделение производили на хроматографическом оборудовании фирмы «Shimadzu» (Япония), включающим спектрофотометрический детектор с диодной матрицей ультрафиолетового и видимого диапазонов, микроплунжерный насос с модулем градиента низкого давления, автосемплер и термостат колонок.

Наилучшие результаты разделения комплекса фенольных веществ были получены на колонке фирмы Macherey-Nagel (Германия) Nucleosil C18AB размером 250·3,0 мм, заполненную обращено-фазовым сорбентом с размером частиц 3 мкм и пористостью 100 Å.

Для анализа антоцианового комплекса пробы готовили следующим образом. Кожицу виноградных ягод отделяли вручную, подсушивали фильтровальной бумагой, затем гомогенизировали при помощи мелющих шаров в планетарной микромельнице «Pulverisette 7», фирмы «Fritsch» (Германия). Далее гомогенизат экстрагировали смесью 50% метанола с 0,5% соляной кислоты. Экстракт центрифугировали Eppendorf 5702 R (Германия) 15 тыс. об. мин., супернатант использовали для хроматографического анализа. Для количественной оценки содержания анализируемых фенольных соединений в виноградной ягоде определяли массовую долю кожицы в ягоде, сухой вес кожицы и рассчитывали коэффициент разбавления при подготовке пробы.

При оптимизации процесса разделения фенольных соединений была подобрана система растворителей, базирующаяся на растворе А – трифтор-уксусной кислоты в воде с массовой концентрацией 0,3% и растворе Б – трифторуксусной кислоты в смеси равных пропорций метанола с ацетонитрилом с массовой концентрацией 0,3%.

Для аналитического разделения использовали линейный градиент от 5% раствора Б на 5 минуте до 35% раствора Б к 70 минуте. Детектирование антоцианов проводили по поглощению при длине волны 525 нм.

#### ***Результаты и обсуждение***

Результаты анализа экстракта кожицы винограда сорта Молдова, проведённого по оптимизированной методике показаны на хроматограмме изображённой на рисунке. Основные пики на хроматограмме соответствуют моногликозидам дельфинидина (Rt 42,0), цианидина (Rt 45,5), петунидина (Rt 46,5), пеонидина (Rt 49,3) и мальвинидина (Rt 50,5). С большей задержкой во времени детектируются пики ацилированных производных антоцианов основные из которых мальвидин - 3-О-(6'-О-ацетил-гликозид) Rt 62,0 и мальвидин-3-О-(6'-О-п-кумароил-гликозид) Rt 65,7.

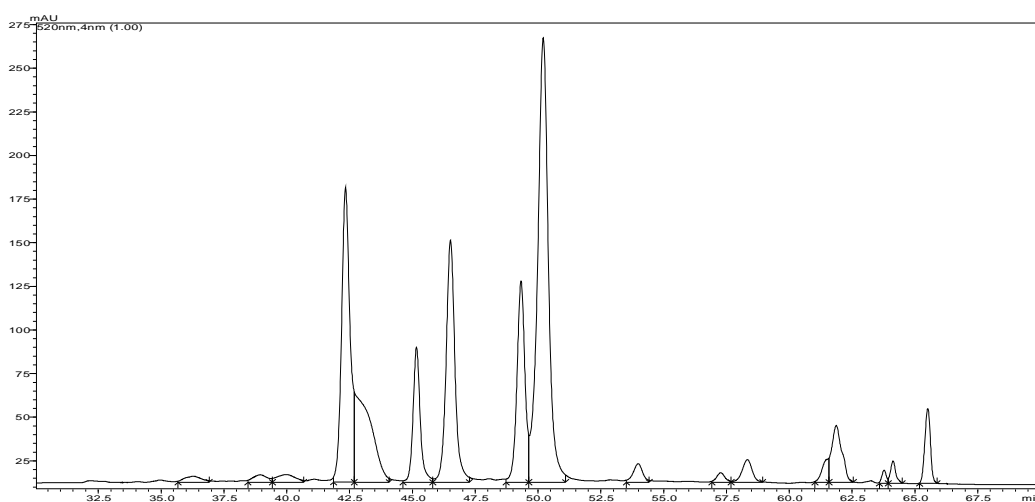
Рис. Хроматограмма комплекса антоцианов винограда сорта Молдова

Дигликозиды антоцианов имеют меньшие времена удерживания и выходят в промежутке Rt 36,0 – 46,5 мин. Ранее при анализе антоцианового комплекса винограда исследователями были получены лишь усреднённые характеристики содержания антоциановых пигментов по группам – моногликозиды, дигликозиды и ацилированные производные. Оптимизированная методика открывает возможности определения массовой концентрации отдельных антоцианов, что является особенно актуальным в связи с проблемой оценки сортовой чистоты виноградников мальвидин-3,5-дигликозид (Rt 46,5) является веществом маркирующим виноград гибридного происхождения, использование которого в виноделии ограничивается европейскими директивами.

### Выводы

1. Подобранны оптимальные условия для проведения анализа состава антоцианового комплекса кожицы виноградной ягоды методом ВЭЖХ. Достигнута высокая селективность пиков и эффективность разделения, достаточная для определения массовой концентрации отдельных веществ по градуировочной характеристике.

2. Предложенная методика анализа пигментного комплекса тёмноокрашенных ягод винограда



позволяет достоверно определять сортовую чистоту виноградника по пику мальвидин - 3,5-дигликозида.

3. Достигнут прогресс в определении качественных показателей пищевой и биологической ценности столового винограда.

### Литература

1. Кретович В. Л. Основы биохимии растений / В. Л. Кретович. – М.: Высшая школа, 1971. – 464 с.
2. Скалецька Л. Ф. Біохімія плодів та овочів: навчальний посібник / Л. Ф. Скалецька, Г. І. Подпрятюв. – К., 1999. – 159 с.
3. Кишковский З. Н. Химия вина / З. Н. Кишковский, И. М. Скурихин. – М.: Пищевая промышленность, 1976. – 310 с.
4. Дженеев С. Ю. Производство винограда, кишмиша и изюма / С. Ю. Дженеев, К. В. Смирнов. – М.: Колос, 1992. – 173 с.
5. L.R. Snyder, Principles of Adsorption Chromatography. - M. Dekker N-Y., 1968.
6. Экспресс-метод полуколичественного определения содержания мальвидин-3,5-дигликозида в кожице винограда, сусле и молодых красных винах / Е. А. Слатья, Т. А. Жиликова, Н. И. Аристова [и др.] // Виноделие и виноградарство. – 2005. – С.26 – 27.

Модонкаева А.Э., Слатья Е.А., Бойко В.А., Анпазова Н.Н

## **К питанню оптимізації процесу розділення антоціанових пігментів столового винограду**

*Розроблено новий підхід до комплексної оцінки складу фенольних речовин столового винограду з використанням високоефективної рідинної хроматографії. У статті наведені результати оптимізації метода аналізу та пробопідготовки виноградної ягоди для вивчення складу фенольних сполук.*

**Ключові слова:** столовий виноград, фенольні сполуки, антоціани, ВЖХ.

**Modonkaeva A.E., Slastia E.A., Boiko V.A., Appazova N.N.**

### **Optimisation of division of anthocyanin pigment in table grape sorts**

*A new approach of of the phenolic compounds of table grapes integrated assessment using high-performance liquid chromatography has been developed. Article presents the results of optimization methods for sample preparation and analysis of grape berries to study the composition of phenolic compounds.*

**Key words:** table grapes , phenolic compounds, anthocyanin pigment.