

Способ подготовки виноградной лозы для эффективного экстрагирования стильбеновых соединений

Черноусова И.В.[✉], Зайцев Г.П., Жилиякова Т.А., Соловьева Л.М., Гришин Ю.В., Мосолкова В.Е.

Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» РАН, г. Ялта, Республика Крым, Россия

[✉]cherninnal@mail.ru

Аннотация. Виноградная лоза является источником стильбеновых соединений, в том числе транс-ресвератрола, обладающих кардиопротекторной, гиполлипидемической, анти-канцерогенной активностями. Работа посвящена установлению оптимального способа подготовки лозы винограда к наиболее эффективному экстрагированию стильбеновых соединений. Исследована динамика содержания суммарных полифенолов, стильбеновых соединений, транс-ресвератрола в лозе винограда сорта Каберне Совиньон при хранении, при различных способах механической обработки. Полифенолы определяли методами ВЭЖХ и колориметрическим методом в равновесных водно-спиртовых экстрактах вино-градной лозы. Показано, что повреждение побегов винограда перед хранением путем нарезки лозы на черенки длиной не более 50 см и нанесением на них надразов, расстояние между которыми составляет не более 5 см, а также предварительная нарезка побегов на бруски длиной не более 1,5 см, и снижение влажности побегов до уровня не ниже 15 % в течение 4-х недель хранения, способствует эффективному накоплению стильбеновых соединений, в том числе транс-ресвератрола. Одностадийную экстракцию подготовленных побегов винограда методом настаивания следует проводить с использованием водно-спиртового экстрагента с объемной долей этилового спирта не менее 90 % при соотношении «твердая фаза: жидкость» 1:3.

Ключевые слова: полифенолы; транс-ресвератрол; высокоэффективная жидкостная хроматография; механическая обработка; водно-спиртовой экстракт.

Для цитирования: Черноусова И.В., Зайцев Г.П., Жилиякова Т.А., Соловьева Л.М., Гришин Ю.В., Мосолкова В.Е. Способ подготовки виноградной лозы для эффективного экстрагирования стильбеновых соединений // «Магарач». Виноградарство и виноделие. 2024;26(3):308-315. EDN WVWRBQ.

Method to prepare grapevine canes for effective extraction of stilbene compounds

Chernousova I.V.[✉], Zaitsev G.P., Zhilyakova T.A., Solovyova L.M., Grishin Yu.V., Mosolkova V.E.

All-Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking Magarach of the RAS, Yalta, Republic of Crimea, Russia

[✉]cherninnal@mail.ru

Abstract. Grapevine cane is a source of stilbene compounds, including trans-resveratrol, which have cardioprotective, lipid-lowering, and anti-carcinogenic activities. The work is devoted to the establishment of an optimal method to prepare grapevine canes for the most effective extraction of stilbene compounds. The dynamics in the content of total polyphenols, stilbene compounds, trans-resveratrol in the canes of 'Cabernet Sauvignon' grapes during storage, when using various methods of mechanical processing, was studied. Polyphenols were determined using HPLC and colorimetric methods in equilibration water-alcohol extracts of grapevine cane. It was shown that injury of grapevine canes before storage by cutting into grafts no more than 50 cm long, and making incisions with an interval of no more than 5 cm, as well as pre-cutting of shoots into pieces no more than 1.5 cm long, and reducing humidity of shoots to the level of at least 15 % during 4 weeks of storage, promoted the effective accumulation of stilbene compounds, including trans-resveratrol. One-stage extraction of prepared grape shoots by infusion should be carried out using a water-alcohol extractant with a volume fraction of ethyl alcohol of at least 90 % at a ratio of solid phase: liquid – 1:3.

Key words: polyphenols; trans-resveratrol; high-performance liquid chromatography; mechanical processing; water-alcohol extract.

For citation: Chernousova I.V., Zaitsev G.P., Zhilyakova T.A., Solovyova L.M., Grishin Yu.V., Mosolkova V.E. Method to prepare grapevine canes for effective extraction of stilbene compounds. Magarach. Viticulture and Winemaking. 2024;26(3):308-315. EDN WVWRBQ (in Russian).

Введение

На сегодняшний день широко применяются биологически активные вещества и лекарственные препараты на основе растительного сырья. Особый интерес вызывают полифенольные вещества, представленные такими группами соединений, как стильбеноиды, лигнаны, фенолкислоты, фенолоспирты, флавоноиды [1, 2]. В институте «Магарач» разработана технология производства пищевого продукта функциональной направленности на основе применения в

качестве сырья одревесневших безлиственных однолетних побегов винограда (далее – лоза). На основе разработанной технологии впервые получен безалкогольный экспериментальный образец концентрата полифенолов лозы винограда безалкогольный пищевой с нормируемым содержанием полифенолов не менее 9,0 г/дм³, в том числе 0,7 г/дм³ транс-ресвератрола. На сегодняшний день в РФ не существует аналогов пищевых концентратов полифенолов лозы винограда в наиболее усваиваемой жидкой форме, с содержанием транс-ресвератрола в количестве 0,7 г/дм³. Результаты НИР ориентированы на решение вопро-

са получения пищевой продукции функциональной направленности с вовлечением в промышленную переработку неиспользуемого отхода виноградарства – одревесневших безлиственных однолетних побегов винограда, образующихся в результате ежегодной обрезки виноградного куста в количестве до 2 т с 1 га виноградника. Агротехнический прием по удалению части побегов производится в осенне-зимний период с целью придания кусту необходимой формы и для установления оптимальной нагрузки побегами (ГОСТ Р 52681). Побеги, полученные в ходе обрезки виноградного куста, относятся к пятому безопасному классу (V классу) по степени негативного воздействия на окружающую среду, согласно Федеральному классификационному каталогу отходов; код вида отхода – 731300001205 [3].

Анализ литературных источников показал, что в лозе винограда содержится большое количество полифенолов различных групп, в том числе и стильбеновых соединений, обладающих мощными антиоксидантными свойствами [4-12]. Стильбены в лозе винограда представлены преимущественно транс-изомерами ресвератрола и ϵ -виниферина, суммарная концентрация которых изменяется от 23,6 до 88,5 мг/кг сухой массы с преобладанием ϵ -виниферина (70 % от общего содержания стильбенов). Содержание ϵ -виниферина находится в диапазоне концентраций 0,1–100,0 мг/кг сухой массы [4-7].

По нашим данным [13] в составе комплекса полифенолов, выделенных из лозы винограда различных сортов, содержатся транс-ресвератрол, ϵ -виниферин, транс-пицеид, транс-пикеатаннол. Содержание стильбеноидов в этанольных экстрактах лозы винограда составило от 9,2 до 47,2 % от суммы всех фенольных веществ. Низкая растворимость полифенолов винограда, в том числе и стильбеноидов, в водной среде ограничивает их использование при получении пищевых продуктов функциональной направленности. С учетом важного значения виноградных стильбеновых полифенолов как природных антиоксидантов, обладающих кардиопротекторной, гиполипидемической, выраженной антиканцерогенной активностью [14-19], представляется актуальной задачей получение более подробной экспериментальной информации о способах эффективного извлечения стильбеновых соединений из лозы винограда.

В течение многих лет широко используются традиционные методы извлечения фенольных соединений из растительного сырья для их идентификации и дальнейшего применения [20-22]. Твердожидкостная экстракция фенольных соединений из лозы винограда получила широкое

признание простоты и эффективности использования. Перед экстракцией материал предварительно обрабатывается путем помола, измельчения, сушки и гомогенизации. Ранее было установлено, что подсушивание лозы в междурядьях в течение недели приводит к снижению концентрации флавонолов и полимерных процианидинов соответственно в 1,2 и 1,6 раза, что необходимо учитывать при заготовке сырья для экстрагирования фенольных веществ, а стильбеноиды, идентифицированные в структурных элементах растений, не обнаруживаются в здоровом растении, а синтезируются в ответ на инфицирование фитопатогеном, УФ-облучение, механическое повреждение [23-25].

Для успешного развития производства в пилотных или промышленных масштабах необходим ряд условий, одно из которых – наличие легко восполняемого сырья, поэтому есть необходимость в эффективности технологических приемов заготовки сырья, обеспечивающих его сохранность. Нашей задачей исследований явилось установление оптимального способа подготовки побегов винограда к наиболее эффективному экстрагированию стильбеноидов, в том числе транс-ресвератрола, включающий механическое повреждение лозы с дальнейшим ее хранением до относительной влажности не более 15 %.

Целью исследований явилось установление оптимального способа подготовки лозы винограда к наиболее эффективному экстрагированию стильбеновых соединений, в том числе транс-ресвератрола, включающему механическое повреждение побегов с последующим ее хранением.

Материалы и методы исследования

Предметом исследований являлись одревесневшие, безлиственные однолетние побеги винограда (лоза), собранные в междурядье после обломки куста винограда в осенне-зимний период 2023 года (п. Аутка г. Ялта, Республика Крым; с. Вилино, Бахчисарайский район, Республика Крым). В средней пробе собранной лозы определяли влажность по ГОСТ 16483. 7-71.

Образцы лозы винограда, заготовленные для исследования, представлены в таблице 1.

Для проведения эксперимента собранная лоза была разделена на 4 группы – контрольную и три опытных. Контрольная группа – лоза винограда без хранения. Опытная группа № 1 (опыт 1) – хранение

Таблица 1. Перечень и физические характеристики образцов лозы винограда сорта Каберне Совиньон, отобранной для исследования

Table 1. List and physical characteristics of chosen for research cane samples of 'Cabernet Sauvignon' grape variety

Наименование образца лозы винограда	Виноградо-винодельческий район РК	Дата сбора побегов	Длина побегов, м	Толщина побегов, м	Масса, кг	Влажность, %
Побеги винограда (п. Аутка)	Южный берег Крыма (ЮБК)	10.03.2023	1,5 ± 0,2	0,012 ± 0,03	40,6	39,0 ± 0,6
Побеги винограда (п. Вилино, Бахчисарайский район)	Крымский западно-приморский предгорный район (КЗПП)	04.03.2023	0,55 ± 0,05	0,006 ± 0,001	15,0	41,9 ± 0,6

лозы при комнатной температуре; опытная группа №2 (опыт 2) – хранение лозы с предварительной ее нарезкой на черенки длиной не более 50 см и нанесением насечек секатором глубиной не более 1 мм, через ≤ 5 см. Опытная группа № 3 (опыт 3) – хранение лозы с предварительной ее нарезкой на бруски длиной не более 1,5 см. Хранение лозы опытных групп лозы осуществляли в лабораторном помещении при комнатной температуре, влажности воздуха 60-65 %. Лозу контрольной группы отбирали из средней пробы в количестве 80 г, затем измельчали до размеров частиц 2-11 мм на измельчителе типа Bosch АХТ Rapid 2000 и закладывали на одностадийную экстракцию методом настаивания водно-спиртовым экстрагентом с объемной долей этилового спирта 90 % при соотношении «твердая фаза: жидкость» 1:3. Образцы лозы опытных групп отбирали каждые 2-е суток в количестве 80 г для проведения контроля влажности и закладывали на одностадийную экстракцию водно-спиртовым раствором с объемной долей этилового спирта 90 % методом настаивания. Образцы лозы опытных групп 1, 2 предварительно измельчали, как описано выше. Образцы брусков побегов 3-ой опытной группы закладывали на экстракцию, не измельчая. Настаивание образцов лозы контрольной и опытных групп проводили до момента достижения равновесной концентрации фенольных веществ в твердой и жидкой фазах спиртовых экстрактов. Суммарную концентрацию фенольных веществ в спиртовых экстрактах определяли методом Фолина-Чокальтеу. Качественный и количественный состав полифенолов, отобранных в спиртовых экстрактах контрольной и опытных групп определяли методом ВЭЖХ с использованием хроматографической системы Agilent Technologies (модель 1100) с диодно-матричным детектором. Для разделения веществ использовали 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 гради-

ентном режиме. Состав элюента: А – метанол, В – 0,1 %-ный водный раствор ортофосфорной кислоты. Состав элюента в ходе хроматографирования изменялся по следующей схеме (по содержанию элюента А): 0-8 мин. – 10-30 %; 8-25 мин. – 30-80 %; 25-26 мин. – 80-100 %. Скорость потока элюента – 0,25 мл/мин. Объем вводимой пробы 1 мкл. Хроматограммы регистрировали при следующих длинах волн: 254 нм для эллаговой кислоты, 280 нм для галловой кислоты, (+)-D-катехина, (-)-эпикатехина и процианидинов, 306 нм для стильбенов и их производных, 350 нм для гликозидов кверцетина, 371 нм для кверцетина и кемпферола. Идентификацию веществ производили путем сравнения их спектральных характеристик и времени удерживания с аналогичными характеристиками стандартов. Спектральные характеристики отдельных веществ подтвердили с использованием данных литературы [26-28]. Расчет количественного содержания индивидуальных компонентов производили с использованием калибровочных графиков зависимости площади пика от концентрации вещества, построенных по растворам индивидуальных веществ. Содержание полимерных и олигомерных процианидинов вычисляли в пересчете на (+) – D-катехин. Все определения проводили в трех повторностях.

В качестве стандартов использовали галловую кислоту, (+)-D-катехин, кверцетин дигидрат, изокверцитрин (Fluka Chemie AG, Швейцария) и транс-ресвератрол, (-)-эпикатехин (Sigma-Aldrich, Швейцария).

Результаты и их обсуждение

Анализ данных показал (табл. 2), что хранение лозы винограда приводит к снижению в них относительной влажности, значения которой находятся в зависимости от длительности хранения и способа предварительной подготовки лозы.

В лозе винограда, нарезанной черенками без насечек из п. Аутка, влажность за 4 недели хранения снизилась на 36 %, в лозе, нарезанной в виде брусочков – на 44 %. Отмечено, что за равной временной промежуток хранения (4 недели) в лозе винограда

Таблица 2. Полифенольный состав спиртовых экстрактов лозы винограда сорта Каберне Совиньон (п. Аутка)
Table 2. Polyphenolic composition of alcoholic extracts of ‘Cabernet Sauvignon’ grapevine canes (Autka village)

Показатели	Массовая концентрация, мг/ кг сухой массы										Корреляция с W
	кон- троль	длительность хранения лозы, недели									
		2			3			4			
1	2	опыт 1	опыт 2	опыт 3	опыт 1	опыт 2	опыт 3	м	1.2	1.3	12
Влажность (W), %	39,0±0,6	32,7±0,6	27,1±0,4	24,9±0,4	30,4±0,5	26,4±0,4	24,0±0,4	24,8±0,4	18,2±0,3	21,7±0,3	
Сумма фенольных ВЭЖХ, г/кг сухой массы	11,6±0,3	6,6±0,2	7,1±0,2	7,6±0,2	6,4±0,2	9,2±0,2	8,6±0,2	7,2±0,2	9,9±0,2	10,4±0,3	
Гидроксибензойные кислоты (галловая кислота)	25,3±0,6	11,5±0,3	9,2±0,2	8,5±0,2	12,8±0,3	8,9±0,2	8,1±0,2	7,0±0,2	5,5±0,1	-	0,90
Флаван-3-олы (сумма)	1364,7±34,1	1300,4±32,6	1057,2±26,4	830,5±20,8	1140,7±28,5	923,0±23,1	722,6±18,1	796,7±19,9	577,0±14,4	610,1±15,3	0,95
Флавоны, (сумма)	31,2±0,8	22,9±	21,0±0,5	24,3±0,6	16,4±0,4	17,7±0,4	26,6±0,7	13,9±0,3	16,2±0,4	17,4±0,4	0,59
Олигомерные проантоцианидины	834,5±20,9	676,5±16,8	541,9±13,5	518,7±13,0	591,1±14,8	656,6±16,4	560,9±14,0	495,5±12,4	553,5±13,8	529,4±13,2	0,83

Окончание таблицы 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Полимерные проантоцианидины	4922,8±123,1	2341,7±51,6	1640,1±41,0	1078,4±27,0	1884,6±47,1	1468,7±36,7	642,2±16,1	2093,0±52,3	1828,9±45,7	1511,1±37,8	0,76
Сумма всех стильбенов	4415,4±110,4	2222,7±67,4	3822,4±95,6	5099,8±127,5	2754,6±68,9	6162,1±154,1	6661,8±166,5	3741,2±93,5	6910,8±172,8	7686,3±192,2	-0,66
Транс-ресвератрол	83,5±2,1	345,8±10,5	1855,6±46,4	2859,1±71,5	495,2±12,4	3179,9±79,5	3698,1±92,5	1345,3±33,6	4216,8±105,4	4664,8±116,6	-0,77
ε-виниферин	3664,8±91,6	1499,3±34,7	1327,5±33,2	1523,5±38,1	1866,8±46,7	2011,1±50,3	2061,9±51,5	1815,6±45,4	1750,3±43,8	2125,1±53,1	0,56
Транс-ресвератрол-4'-О-глюкозид	–	1,9±0,1	2,5±0,1	1,8±0,1	–	1,8±0,1	2,5±0,1	2,6±0,1	2,5±0,1	2,5±0,1	-0,77
Транс-пигеид	3,9±0,1	3,7±0,1	6,3±0,2	6,6±0,2	3,7±0,1	7,6±0,2	8,1±0,2	6,9±0,2	10,0±0,3	9,2±0,2	-0,91
Пикеатанол	38,7±1,0	73,1±1,8	289,6±7,2	330,5±8,3	116,6±2,9	487,0±12,2	388,3±9,7	143,5±3,6	318,9±8,0	351,0±8,8	-0,71
Не идентифицированные стильбены	624,5±15,6	298,8±8,7	341,0±8,5	378,3±9,5	272,2±6,8	474,7±11,9	502,9±12,6	427,3±10,7	612,4±15,3	533,7±13,3	-0,19

из п. Вилино, нарезанной черенками и с насечками, влажность достигла минимальных показателей 12 %.

Исследования качественного и количественного составов равновесных спиртовых экстрактов лозы винограда показали, что в лозе винограда сорта Каберне Совиньон присутствуют гидроксibenзойные кислоты (галловая), глюкозиды флавонов (кверцетин-3-О-глюкозид-7-О-глюкуронид, кверцетин-3-О-глюкозид), флавоно-3-олы (катехин, эпикатехин), стильбеновые вещества (транс-ресвератрол, ε-виниферин, транс-ресвератрол-4'-О-глюкозид, транс-пигеид, пикеатанол), олигомерные процианидины, полимерные процианидины. По мере снижения влажности лозы винограда из п. Аутка от 39,0 % до 32,7 %, 27,1 % и 24,9 % для опытов 1, 2 и 3 соответственно через 2 недели хранения суммарная концентрация полифенолов (по реактиву Фолина-Чокальтеу) в экстрактах снизилась по сравнению с контролем в 1,5 раза.

В экстрактах лозы винограда сорта Каберне Совиньон (п. Аутка), хранившейся без предварительного механического повреждения (опыт 1) в течение 4 недель при комнатной температуре, на фоне снижения ее влажности наблюдалось уменьшение общего содержания фенольных соединений на 17 %. При этом изменялся и количественный состав полифенолов. Так, концентрация флавонов снизилась на 42 %, флавоно-3-олов – на 55 %, концентрация олигомерных процианидинов и полимерных процианидинов – на 50 %. При хранении лозы винограда (п. Аутка) с предварительной нарезкой на черенки длиной не более 50 см с дальнейшим нанесением на черенки надразов (опыт 2) на-

Таблица 3. Полифенольный состав спиртовых экстрактов лозы винограда сорта Каберне Совиньон (п. Вилино)

Table 3. Polyphenolic composition in alcoholic extracts of 'Cabernet Sauvignon' grapevine canes (Vilino village)

Показатели	Массовая концентрация, мг/кг сухой массы			
	контроль	длительность хранения побегов, недели		
		2	3	4
Влажность, %	41,9±0,6	21,6±0,3	15,6±0,2	12,3±0,2
Сумма фенольных ВЭЖХ, г/кг сухой массы	12,3±0,3	14,8±0,4	16,5±0,4	17,4±0,4
Гидроксibenзойные кислоты (галловая кислота)	29,8±0,7	19,1±0,5	21,4±0,5	24,7±0,6
Флаван-3-олы (сумма)	1104,4±27,6	1190,4±29,8	955,6±23,9	1233,8±30,8
(+)-D-Катехин	436,0±10,9	519,0±13,0	367,9±9,2	577,2±14,4
(-)-Эпикатехин	668,4±16,7	671,4±16,8	587,7±14,7	656,6±16,4
Флавоны (сумма)	13,2±0,3	11,1±0,3	9,1±0,2	27,2±0,7
Кверцетин-3-О-глюкозид	13,2±0,3	11,1±0,3	9,1±0,2	13,3±0,3
Кверцетин-3-О-глюкуронид		не обнаружено		13,9±0,3
Олигомерные процианидины	1158,0±29,0	1055,0±26,4	1119,5±28,0	1149,9±28,7
Полимерные процианидины	7026,4±175,7	6841,7±171,0	7249,6±181,2	7968,4±199,2
Сумма всех стильбенов	2931,1±73,3	5718,0±143,0	7128,6±178,2	6975,8±174,4
Транс-ресвератрол	105,5±2,6	3018,2±75,5	4526,0±113,2	3679,1±92,0
ε-виниферин	2013,4±50,3	1258,1±31,5	1314,9±32,9	1993,8±49,8
Транс-ресвератрол-4'-О-глюкозид	9,0±0,2	7,6±0,2	5,7±0,1	8,6±0,2
Транс-пигеид	9,1±0,2	14,9±0,4	15,9±0,4	22,6±0,6
Пикеатанол	81,5±2,0	680,4±17,0	486,6±12,2	420,4±10,5
Не идентифицированные стильбены	712,6±17,8	738,8±18,5	779,6±19,5	851,3±21,3

блюдалось снижение концентрации флавонов на 57%, флаван-3-олов – на 50 %. Аналогичная тенденция наблюдалась в спиртовых экстрактах лозы винограда, собранной в п. Вилино (опыт 2) (табл. 3).

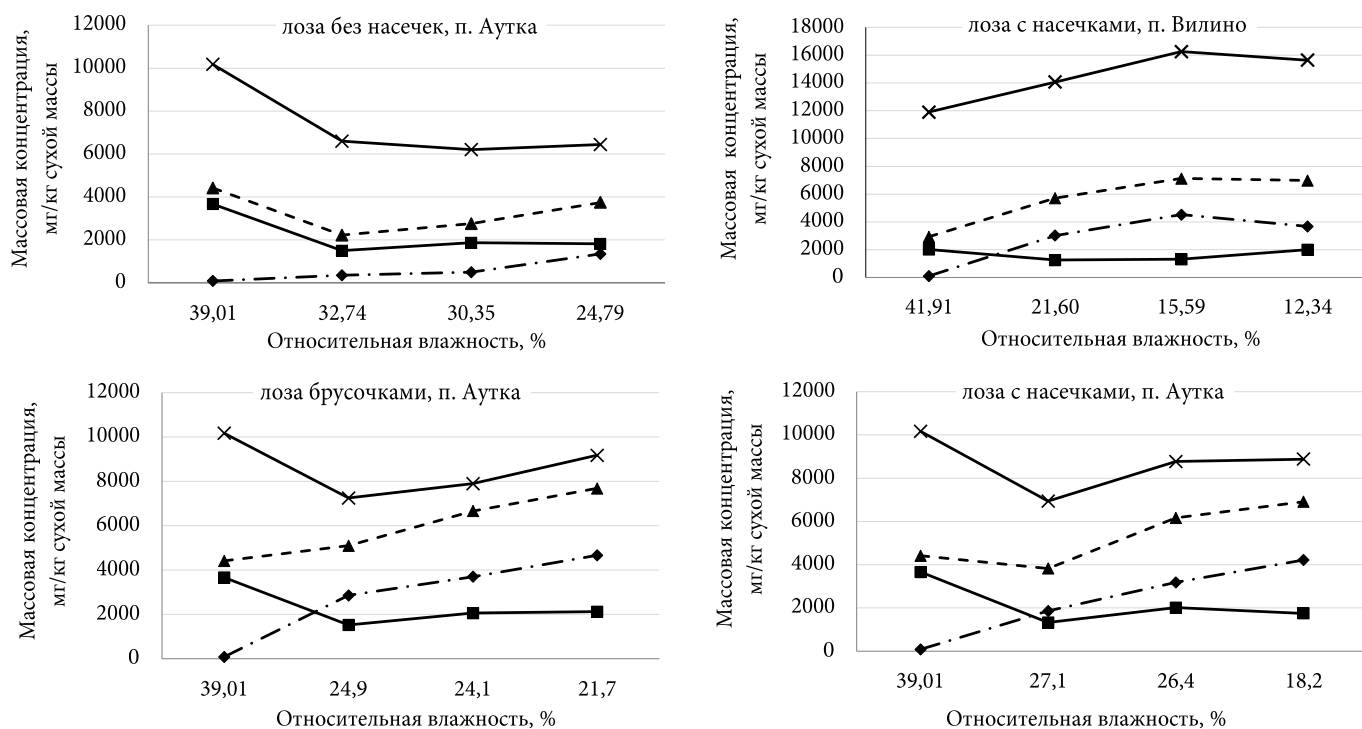


Рис. 1. Динамика изменения концентрации стилбенов в лозе винограда сорта Каберне Совиньон при снижении относительной влажности в процессе хранения

Fig. 1. Dynamics of changes in the concentration of stilbenes in canes of 'Cabernet Sauvignon' variety with a decrease in relative humidity during storage

Математическая обработка экспериментальных данных выявила взаимосвязь между значениями относительной влажности лозы и концентрацией всех групп полифенолов, обнаруженных в спиртовых экстрактах (табл. 2). Высокие коэффициенты корреляции (при $P < 0,05$, $n=15$) при $r = 0,90$ для галловой кислоты; $r = 0,95$ для флаван-3-олов; $r = 0,83$ для олигомерных процианидинов; $r = 0,76$ для полимерных процианидинов; $r = 0,56$ для ϵ -виниферина подтверждают прямую зависимость влияния влажности побегов на концентрацию полифенолов в лозе винограда в ходе ее хранения. Коэффициенты корреляции для стилбеновых соединений составили $r = -0,66$ для суммы стилбенов, $r = -0,77$ для транс-ресвератрола, $r = -0,91$ для транс-пигицеида, что подтверждает обратную зависимость влияния относительной влажности побегов при их хранении на процесс накопления стилбенов, в том числе транс-ресвератрола и его производных (транс-пигицеида, пикеатанола).

В процессе хранения лозы винограда с предварительной нарезкой ее на брусочки длиной не более 1,5 см (опыт 3) наблюдались изменения качественного и количественного компонентного состава полифенолов (рис. 1). Так, установлено снижение концентрации стилбенов в течение первых 2-х недель хранения в опытах 1 и 2 при достижении влажности 32 и 27 %, а также увеличение содержания стилбенов в опыте 3 при снижении влажности до 24 %. Дальнейшее снижение влажности в ходе хранения сопровождается увеличением содержания стилбеновых веществ в опытах 2 и 3 в 1,6 и 1,7 раз соответственно. Это происходит преимущественно за счет повышения кон-

центрации транс-ресвератрола, транс-пигицеида, пикеатанола (рис. 1). При этом содержание ϵ -виниферина снижается в ходе хранения побегов по сравнению с исходными значениями в 1,5-2 раза при снижении относительной влажности до 12 % видимо за счет окислительных процессов, происходящих в лозе винограда в процессе ее хранения.

Таким образом, для накопления максимальной концентрации транс-ресвератрола не рекомендуется снижать влажность лозы при ее хранении до значения ниже 15 %, что приводит к снижению уровня стилбеновых соединений, в том числе транс-ресвератрола.

Сравнительный анализ результатов исследований показал, что механическое повреждение виноградных побегов способствует более полному накоплению стилбеновых соединений и, в первую очередь, транс-ресвератрола, на этапе хранения побегов (рис. 2). Полученные данные согласуются с результатами научных исследований, свидетельствующих об индукции синтеза транс-ресвератрола в растениях в ответ на механическое повреждение [2].

Таким образом, хранение лозы винограда в виде черенков с нанесенными предварительно насечками или в виде брусочков не более 1,5 см способствует более быстрому снижению влажности до оптимального уровня не ниже 15 %, что обеспечивает максимальное накопление стилбеновых соединений, в том числе транс-ресвератрола, в лозе винограда сорта Каберне Совиньон.

Выводы

На основании проведенных исследований установлено, что для эффективного извлечения стилбе-

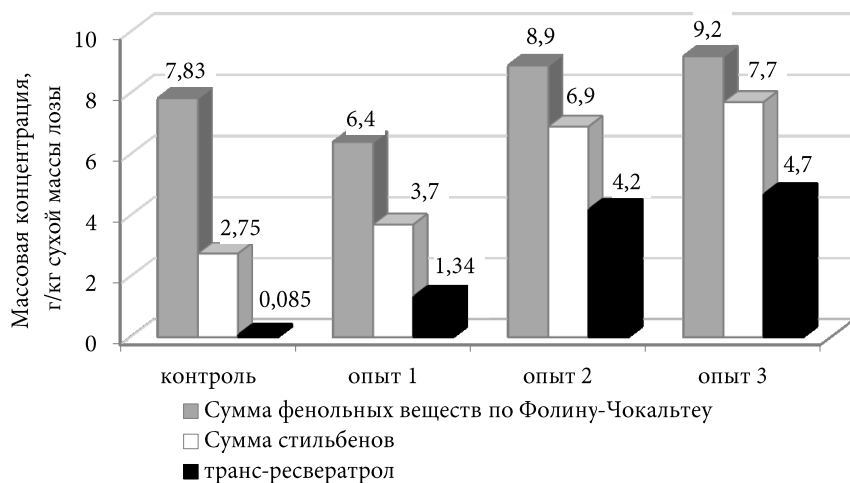


Рис. 2. Влияние способа механической обработки побегов винограда в процессе их хранения в течение 4-х недель на количественный состав стильбеновых соединений

Fig. 2. The effect of the method of mechanical processing of grapevine canes during their storage for 4 weeks on the quantitative composition of stilbene compounds

новых соединений, в том числе транс-ресвератрола необходимо проводить предварительную подготовку виноградной лозы, включающую ее нарезку на черенки длиной до 50 см с дальнейшим нанесением на черенки насечек, расстояние между которыми не более 5 см или нарезку лозы на бруски длиной не более 1,5 см перед закладкой на хранение.

Хранение лозы винограда целесообразно проводить до остаточной влажности не ниже 15 %. Стрессовые факторы, создаваемые механическим повреждением и потерей тканями лозы влаги до значения не более 15 %, обеспечивают интенсификацию синтеза транс-ресвератрола и его максимальное накопление. Перед экстрагированием необходимо проводить деструкцию черенков лозы с насечками на измельчителе до размеров частиц 2–11 мм.

Экстракцию полифенолов подготовленной лозы винограда, приведенными выше способами, рекомендуется проводить с использованием водно-спиртового экстрагента с объемной долей этилового спирта не менее 90 % при соотношении «твердая фаза : жидкость» 1:3.

Источник финансирования

Работа выполнена в рамках государственного задания № FNZM-2022-0004.

Financing source

The work was conducted under public assignment No. FNZM-2022-0004.

Конфликт интересов

Не заявлен.

Conflict of interests

Not declared.

Список литературы

1. Тутельян В.А., Киселева Т.Л., Кочеткова А.А. Растительные источники фитонутриентов для специализированных пищевых продуктов антидиабетического действия. М.: Библио-Глобус. 2016:1-421.

2. Сокурено М.С., Соловьева Н.Л., Бессонов В.В., Мазо В.К. Полифенольные соединения класса стильбеноиды: классификация, представители, содержание в растительном сырье, особенности структуры, использование в пищевой промышленности и фармации // Вопросы питания. 2019;88(1):17-25. DOI 10.24411/0042-8833-2019-10002.

3. Приказ от 22.05.2017 года № 242 Федеральной службы по надзору в сфере природопользования «Об утверждении федерального классификационного каталога отходов» https://rpn.gov.ru/upload/iblock/e54/prikaz_rosprirodnadzora_ot_22_05_2017_n_242_ob_utverzhenii.pdf. (дата обращения: 21.06.2024).

4. Goufo P., Singh R.K., Cortez I.A. Reference list of phenolic compounds (including stilbenes) in grapevine (*Vitis vinifera* L.) roots, woods, canes, stems, and leaves. Antioxidants. 2020;9(5):1-398. DOI 10.3390/antiox9050398.

5. Lachman J., Kotíková Z., Hejtmánková A., Pivec V., Pšeničnája O., Šulc M., Stráalková R., Dědina M. Resveratrol and piceid isomers concentrations in grapevine shoots, leaves, and tendrils. Hort. Sci. Prague. 2016;43(1):25-32. DOI 10.17221/258/2014-HORTSCI.

6. Aaviksaar A., Haga M., Pussa T., Roasto M., Tsoupras G. Purification of resveratrol from vine stems. Proceedings of the Estonian Academy of Sciences, Chemistry. 2003;52:155-164.

7. Соловьева Л.М., Чурсина О.А., Гришин Ю.В., Дадашев М.Н., Ходаков А.Л. Виноградная лоза как источник натуральных биологически активных веществ // Пищевая наука и технология. 2013;24(3):35-38.

8. Nemeth G., Hegyi O., Dunai A., Laszlo Kocsis L. Stilbenes in the different organs of *Vitis vinifera* cv. Merlot grafted on TK5BB rootstock. OENO One. 2017;51(3):323-328. DOI 10.20870/oeno-one.2016.50.4.1068.

9. Модонкаева А.Э., Бойко В.А., Сластья Е.А., Аппазова Н.Н. Сортовые особенности качественного и количественного состава фенольных веществ основных вегетативных органов виноградного куста // «Магарач». Виноградарство и виноделие. 2012;2:11-14.

10. Chernousova I.V., Zaitsev G. P., Zhilyakova T.A., Grishin Yu.V. Biologically active agents as part of extracts of grape leaves and vines and method of their extraction. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2022;954:012016. DOI 10.1088/1755-1315/954/1/012016.

11. Kiselev K.V., Aleynova O.A., Grigorichuk V.P., Dubrovina A.S. Stilbene accumulation and expression of stilbene biosynthesis pathway genes in wild grapevine *Vitis Amurensis* Rupr. Planta. 2017; 245(1):151-159. DOI 10.1007/s00425-016-2598-z.

12. Панасюк А.Л., Кузьмина Е.И., Свиридов Д.А. Протекторные свойства сезонных вегетативных частей виноградного растения // «Магарач». Виноградарство и виноделие. 2018;3:33-35.

13. Черноусова И.В., Зайцев Г.П., Жиликова Т.А., Гришин Ю.В., Мосолкова В.Е., Соловьева Л.М., Огай Ю.А. Полифенолы выжимки и лозы винограда, качественный и количественный состав // Магарач. Виноградарство и виноделие. 2021;23(3):292-298. DOI 10.35547/1M.2021.91.54.014.

14. Залесский В.Н., Великая Н.В., Омельчук С.Т. Противовоспалительное питание в профилактике и лечении хронических неинфекционных (в том числе опухолевых) заболеваний человека. Молекулярные защитные механизмы

- биоактивных компонентов пищи. Винница: Нова книга. 2014:1-736.
15. Chedea V.S., Tomoiagă L.L., Macovei S.O., Măgureanu D.C., Iliescu M.L., Bocsan I.C., Buzoianu A.D., Voşloban C.M., Pop R.M. Antioxidant/pro-oxidant actions of polyphenols from grapevine and wine by-products-base for complementary therapy in ischemic heart diseases. *Front. Cardiovasc. Med.* 2021;8:750508. DOI 10.3389/fcvm.2021.750508.
 16. Xue Y.Q., Di J.M., Luo Y., Cheng K.J., Wei X., Shi Z. Resveratrol oligomers for the prevention and treatment of cancers. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* 2014:765832. DOI 10.1155/2014/765832.
 17. Troilo M., Difonzo G., Vito M., Paradiso V.M., Summo C., Caponio F. Bioactive compounds from vine shoots, grape stalks, and wine lees: their potential use in agro-food chains. *Foods.* 2021;10(2):342. DOI 10.3390/foods10020342.
 18. Biais B., Krisa S., Cluzet S., Da Costa G., Waffo-Tégou P., Mérillon J-M., Richard T. Antioxidant and cytoprotective activities of grapevine stilbenes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2017;65:4952-4960. DOI 10.1021/acs.jafc.7b01254.
 19. Mojzer E.B., Hrnčič M.K., Škerget M., Knez Ž., Bren U. Polyphenols: extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects. *Molecules.* 2016;21(7):901. DOI 10.3390/molecules21070901.
 20. Абашкин И.А., Елеев Ю.А., Глухан Е.Н., Кучинский Е.В., Афанасьев В.В. Методы экстракции биологически активных веществ из растительного сырья (обзор) // Химия и технология органических веществ. 2021;2(18):43-59. DOI 10.54468/25876724_2021_2_43.
 21. Stalikas C.D. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *J. Sep. Sci.* 2007;30(18):3268-3295. DOI 10.1002/jssc.200700261.
 22. Robards K. Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables. *Journal of Chromatography A.* 2003;1000:657-691. DOI 10.1016/s0021-9673(03)00058-x.
 23. Барабой В.А. Фенольные соединения виноградной лозы: структура, антиоксидантная активность, применение // Биотехнология. 2009;2(2):67-75.
 24. Becker L., Carré V., Poutaraud A., Merdinoglu D., Chaimbault P. MALDI mass spectrometry imaging for the simultaneous location of resveratrol, pterostilbene and viniferins on grapevine leaves. *Molecules.* 2014;19(7):10587-10600. DOI 10.3390/molecules190710587.
 25. Wang W., Tang K., Yang H.-R., Wen P.-F., Zhang P., Wang H.-L., Huang W.D. Distribution of resveratrol and stilbene synthase in young grape plants (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon) and the effect of UV-C on its accumulation. *Plant Physiology and Biochemistry.* 2010;48(2-3):142-152. DOI 10.1016/j.plaphy.2009.12.002.
 26. 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.* 2000;148(2-3):187-197. DOI 10.1016/s0300-483x(00)00210-9.
 27. Bagchi D., Sen C.K., Ray S.D., Das D.K., Bagchi M., Pruess H.G., Vinson J.A. Molecular mechanisms of cardioprotection by a novel grape seed proanthocyanidin extract. *Mutation Research.* 2003;523-524:87-97. DOI 10.1016/s0027-5107(02)00324-x.
 28. Woodring P.J., Edwards P.A., Chisholm M.G. HPLC determination of non-flavonoid phenols in Vidal Blanc wine using electrochemical detection. *J. Agric. Food Chem.* 1990;38(3):729-732. DOI 10.1021/jf00093a030.

References

1. Tutelyan V.A., Kiseleva T.L., Kochetkova A.A. Plant sources of phytonutrients for specialized food products with antidiabetic action. *M.: Biblio-Globus.* 2016:1-421 (*in Russian*).
2. Sokurenko M.S., Solovieva N.L., Bessonov V.V., Mazo V.K. Polyphenolic compounds of the stilbenoid class: classification, representatives, content in plant raw materials, structural features, use in the food industry and pharmacy. *Problems of Nutrition.* 2019;88(1):17-25. DOI 10.24411/0042-8833-2019-10002 (*in Russian*).
3. Order No. 242 dd 22.05.2017 of the Federal Service for Supervision of Natural Resources "On approval of the federal classification catalog of wastes" https://rpn.gov.ru/upload/iblock/e54/prikaz_rosprirodnadzora_ot_22_05_2017_n_242_ob_utverzhenii.pdf (date of access: 21.06.2024) (*in Russian*).
4. Goufo P., Singh R.K., Cortez I.A. Reference list of phenolic compounds (including stilbenes) in grapevine (*Vitis vinifera* L.) roots, woods, canes, stems, and leaves. *Antioxidants.* 2020;9(5):1-398. DOI 10.3390/antiox9050398.
5. Lachman J., Kotíková Z., Hejtmánková A., Pivec V., Pšeničnája O., Šulc M., Stráalková R., Dědina M. Resveratrol and piceid isomers concentrations in grapevine shoots, leaves, and tendrils. *Hort. Sci. Prague.* 2016;43(1):25-32. DOI 10.17221/258/2014-HORTSCI.
6. Aaviksaar A., Haga M., Pussa T., Roasto M., Tsoupras G. Purification of resveratrol from vine stems. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences, Chemistry.* 2003;52:155-164.
7. Solovyova L.M., Chursina O.A., Grishin Yu.V., Dadashev M.N., Hodakov A.L. Vine as a source of biologically active substances. *Technology and Food Safety.* 2013;24(3):35-38 (*in Russian*).
8. Nemeth G., Hegyi O., Dunai A., Laszlo Kocsis L. Stilbenes in the different organs of *Vitis vinifera* cv. Merlot grafted on TK5BB rootstock. *OENO One.* 2017;51(3):323-328. DOI 10.20870/oenone.2016.50.4.1068.
9. Modonkaieva A.E., Boiko V.A., Slastia Ye.A., Appazova N.N. A study of phenolics of table grapes during vegetation. *Magarach. Viticulture and Winemaking.* 2012;2:11-14 (*in Russian*).
10. Chernousova I.V., Zaitsev G. P., Zhilyakova T.A., Grishin Yu.V. Biologically active agents as part of extracts of grape leaves and vines and method of their extraction. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science.* 2022;954:012016. DOI 10.1088/1755-1315/954/1/012016.
11. Kiselev K.V., Aleynova O.A., Grigorochuk V.P., Dubrovina A.S. Stilbene accumulation and expression of stilbene biosynthesis pathway genes in wild grapevine *Vitis Amurensis* Rupr. *Planta.* 2017; 245(1):151-159. DOI 10.1007/s00425-016-2598-z.
12. Panasyuk A.L., Kuzmina E.I., Sviridov D.A. Protector properties of seasonal vegetative parts of a grapevine plant. *Magarach. Viticulture and Winemaking.* 2018;3:33-35 (*in Russian*).
13. Chernousova I.V., Zaitsev G.P., Zhilyakova T.A., Grishin Yu.V., Mosolkova V.E., Solovyova L.M., Ogai Yu.A. Polyphenols of grape pomace and vines, qualitative and quantitative composition. *Magarach. Viticulture and Winemaking.* 2021;23(3):292-298. DOI 10.35547/1M.2021.91.54.014 (*in Russian*).
14. Zalesky V.N., Velikaya N.V., Omelchuk S.T. Anti-inflammatory nutrition in the prevention and treatment of chronic non-infectious (including tumor) human diseases. *Molecular protective mechanisms of bioactive food components.* Vinnitsa: Nova Knyga. 2014:1-736 (*in Russian*).
15. Chedea V.S., Tomoiagă L.L., Macovei S.O., Măgureanu D.C., Iliescu M.L., Bocsan I.C., Buzoianu A.D., Voşloban C.M., Pop R.M. Antioxidant/pro-oxidant actions of polyphenols from

- grapevine and wine by-products-base for complementary therapy in ischemic heart diseases. *Front. Cardiovasc. Med.* 2021;8:750508. DOI 10.3389/fcvm.2021.750508.
16. Xue Y.Q., Di J.M., Luo Y., Cheng K.J., Wei X., Shi Z. Resveratrol oligomers for the prevention and treatment of cancers. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* 2014;765832. DOI 10.1155/2014/765832.
17. Troilo M., Difonzo G., Vito M., Paradiso V.M., Summo C., Caponio F. Bioactive compounds from vine shoots, grape stalks, and wine lees: their potential use in agro-food chains. *Foods.* 2021;10(2):342. DOI 10.3390/foods10020342.
18. Biais B., Krisa S., Cluzet S., Da Costa G., Waffo-Tégou P., Méillon J.-M., Richard T. Antioxidant and cytoprotective activities of grapevine stilbenes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2017;65:4952–4960. DOI 10.1021/acs.jafc.7b01254.
19. Mojzer E.B., Hrnčić M.K., Škerget M., Knez Ž., Bren U. Polyphenols: extraction methods, antioxidative action, bioavailability and anticarcinogenic effects. *Molecules.* 2016;21(7):901. DOI 10.3390/molecules21070901.
20. Abashkin I.A., Eleev Yu.A., Glukhan E.N., Kuchinsky E.V., Afanasyev V.V. Extraction methods for biologically active substances from plant materials (review). *Chemistry and Technology of Organic Substances.* 2021;2(18):43–59. DOI 10.54468/25876724_2021_2_43 (in Russian).
21. Stalikas C.D. Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *J. Sep. Sci.* 2007;30(18):3268–3295. DOI 10.1002/jssc.200700261.
22. Robards K. Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables. *Journal of Chromatography A.* 2003;1000:657–691. DOI 10.1016/S0021-9673(03)00058-X.
23. Baraboy V.A. Grape phenols: structure, antioxidant activity applications. *Biotechnology.* 2009;2(2):67–75 (in Russian).
24. Becker L., Carré V., Poutaraud A., Merdinoglu D., Chaimbault P. MALDI mass spectrometry imaging for the simultaneous location of resveratrol, pterostilbene and viniferins on grapevine leaves. *Molecules.* 2014;19(7):10587–10600. DOI 10.3390/molecules190710587.
25. Wang W., Tang K., Yang H.-R., Wen P.-F., Zhang P., Wang H.-L., Huang W.D. Distribution of resveratrol and stilbene synthase in young grape plants (*Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon) and the effect of UV-C on its accumulation. *Plant Physiology and Biochemistry.* 2010;48(2-3):142–152. DOI 10.1016/j.plaphy.2009.12.002.
26. 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.* 2000;148(2-3):187–197. DOI 10.1016/S0300-483X(00)00210-9.
27. Bagchi D., Sen C.K., Ray S.D., Das D.K., Bagchi M., Preuss H.G., Vinson J.A. Molecular mechanisms of cardioprotection by a novel grape seed proanthocyanidin extract. *Mutation Research.* 2003;523-524:87–97. DOI 10.1016/S0027-5107(02)00324-X.
28. Woodring P.J., Edwards P.A., Chisholm M.G. HPLC determination of non-flavonoid phenols in Vidal Blanc wine using electrochemical detection. *J. Agric. Food Chem.* 1990;38(3):729–732. DOI 10.1021/jf00093a030.

Информация об авторах

Инна Владимировна Черноусова, канд. тех. наук, вед. науч. сотр. лаборатории функциональных продуктов переработки винограда; e-мейл: cherninna1@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5374-7683>;

Татьяна Александровна Жилиякова, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории функциональных продуктов переработки винограда; e-мейл: golden.heart@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5884-6645>;

Людмила Михайловна Соловьева, канд. тех. наук, вед. науч. сотр. лаборатории функциональных продуктов переработки винограда; e-мейл: luda_magarach@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9038-4217>.

Георгий Павлович Зайцев, канд. техн. наук, зав. лабораторией аналитических исследований, инновационных и ресурсосберегающих технологий; e-мейл: gorg-83@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6416-8417>;

Юрий Владимирович Гришин, канд. техн. наук, мл. науч. сотр. лабораторий аналитических исследований, инновационных и ресурсосберегающих технологий; e-мейл: grishin.iurij2010@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6267-4009>;

Виктория Евгеньевна Мосолкова, мл. науч. сотр. лабораторий функциональных продуктов переработки винограда; e-мейл: mosolkova@ukr.net; <https://orcid.org/00000002-7667-0145>.

Information about authors

Inna V. Chernousova, Cand. Techn. Sci., Leading Staff Scientist, Laboratory of Functional Grape Processing Products; e-mail: cherninna1@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5374-7683>;

Tatiana A. Zhilyakova, Cand. Biol. Sci., Senior Staff Scientist, Laboratory of Functional Grape Processing Products; e-mail: golden.heart@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5884-6645>;

Lyudmila M. Solovyova, Cand. Techn. Sci., Leading Staff Scientist, Laboratory of Functional Grape Processing Products; e-mail: luda_magarach@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9038-4217>;

Georgiy P. Zaitsev, Cand. Techn. Sci., Head of the Laboratory of Analytical Research, Innovative and Resource-Saving Technologies; e-mail: gorg-83@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6416-8417>;

Yuriy V. Grishin, Cand. Techn. Sci., Junior Staff Scientist, Laboratory of Functional Grape Processing Products; e-mail: grishin.iurij2010@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6267-4009>;

Victoria E. Mosolkova, Junior Staff Scientist, Laboratory of Functional Grape Processing Products; e-mail: mosolkova@ukr.net; <https://orcid.org/0000-0002-7667-0145>.

Статья поступила в редакцию 15.05.2024, одобрена после рецензии 05.08.2024, принята к публикации 27.08.2024.