

## **Полифенольные биологически активные компоненты пищевого концентрата «Эноант»**

Огай Ю.А., Алексеева Л.М., Сиказан О.М., Катрич Л.И.

(Институт винограда и вина «Магарач», г. Ялта)

**Ключевые слова:** пищевой концентрат «Эноант», сухое вино, полифенолы винограда, жидкостная хроматография

**Ключові слова:** харчовий концентрат «Енант», сухе вино, поліфеноли винограду, жидкісна хроматографія

**Key words:** food concentrate “Eanoant”, dry wine, grapes polyphenols, liquid chromatography

### *Summary*

#### *Polyphenolic biologically active components of food concentrate "Eanoant"*

*Ogaj Y.A., Alekseeva L.M., Sikazan O.M., Katrich L.I.*

*The food concentrate “Eanoant” contains high levels of grapes polyphenols (18-20 g/l of total polyphenols) and other biologically active substances. Flavonoid monomers and nonflavonoid polyphenols and their derivatives, including malvidin (101.5 mg/dm<sup>3</sup>), cyanidin (4.1 mg/dm<sup>3</sup>), delphinidin (13.9 mg/dm<sup>3</sup>), peonidin (13.2 mg/dm<sup>3</sup>), petunidin (2.9 mg/dm<sup>3</sup>), quercetin (136.6 mg/dm<sup>3</sup>), rutin (22.0 mg/dm<sup>3</sup>), (+)catechin (553.0 mg/dm<sup>3</sup>), (-) epicatechin (137.8 mg/dm<sup>3</sup>), (-)epicatechin gallate (127.6 mg/dm<sup>3</sup>), gallic acid (925.7 mg/dm<sup>3</sup>), syringic acid (133.9 mg/dm<sup>3</sup>), caffeic acid (8.3 mg/dm<sup>3</sup>), protocatechic acid (2.5 mg/dm<sup>3</sup>), chlorogenic acid (2.7 mg/dm<sup>3</sup>) and trans-resveratrol (2.6 mg/dm<sup>3</sup>), were identified in “Eanoant” by HPLC. The concentrate “Eanoant” is considerably higher in some flavonoid monomers compared to the relevant “Cabernet” like dry wines.*

### *Резюме*

#### *Полі фенольні біологічно активні компоненти харчового концентрату «Енант»*

*Огай Ю.О., Алексеева Л.М., Сиказан О.М., Катрич Л.И.*

*Харчовий концентрат «Еноант» у значних концентраціях містить поліфеноли (18-20 г/л сумарних поліфенолів) та інші біологічно активні сполуки. У складі сумарних поліфенолів «Еноанта» методом жидкісної хроматографії ідентифіковані мономери флавоноїдів та нефлавоноїдних поліфенолів винограду та їх похідні, у т.ч. мальвідін (101,5 мг/дм<sup>3</sup>), цианідін (4,1 мг/дм<sup>3</sup>), дельфінідін (13,9 мг/дм<sup>3</sup>), пеонідін (13,2 мг/дм<sup>3</sup>), петунідін (2,9 мг/дм<sup>3</sup>), кверцетін (136,6 мг/дм<sup>3</sup>), рутін (22,0 мг/дм<sup>3</sup>), (+) катехін (553,0 мг/дм<sup>3</sup>), (-) епікатехін (137,8 мг/дм<sup>3</sup>), (-) епікатехін-галат (127,6 мг/дм<sup>3</sup>), галова кислота (925,7 мг/дм<sup>3</sup>), сиренева кислота (133,9 мг/дм<sup>3</sup>), кавова кислота (8,3 мг/дм<sup>3</sup>),*

протокатехова кислота (2,5 мг/дм<sup>3</sup>), хлорогенова кислота (2,7 мг/дм<sup>3</sup>) і трансвератрол (2,6 мг/дм<sup>3</sup>). Вміст мономерних флавоноїдів винограду у “Енанті” багаторазово перевищує їх наявність у сухих винах типу “Каберне”.

### **Введение.**

Пищевой концентрат полифенолов винограда «Эноант» производится по техническим условиям, нормирующим содержание фенольных веществ в продукте на уровне 18-20 г/дм<sup>3</sup>, контролируемом фотоколориметрически по реактиву Фолина-Чокальтеу [6]. В связи с высокой антиоксидантной активностью «Эноанта», превышающей показатель антиоксидантной активности аскорбиновой кислоты в 15 раз, а плазмы крови более чем на 3 порядка [3,5] были выявлены различные лечебно-профилактические эффекты его применения [1, 2].

Высокая антиоксидантная активность «Эноанта» связана с наличием в нем суммарных полифенолов винограда, идентификация которых представляет научный и практический интерес.

### **Цель исследования.**

Цель исследования – определение некоторых мономерных полифенолов винограда в составе суммарных полифенолов концентрата «Эноант» и виноматериала «Каберне».

### **Материалы и методы.**

Определение мономерных полифенолов производилось методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на приборе Agilent Technologies 1100 с диодно-матричным детектором.

Реактивы, растворители, а также чистые вещества, использованные при определениях, были приобретены у фирм Fluka, Merck, Aldrich.

Разделение производилось на хроматографической колонке с обращено-фазовым сорбентом Supelcosil LC-18-DB 25 см×2,1 мм зернением 3µм. Элюировали в градиентном режиме со скоростью подачи подвижной фазы 0,2 мл/мин.

Раствор А: муравьиная кислота / вода (в соотношении 9/1).

Раствор В: метанол.

Раствор С: метанол / ацетонитрил / муравьиная кислота / вода (в соотношении 22,5 / 22,5 / 10 / 45).

Анализ проводился непосредственно после фильтрования пробы (через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45µм) и подкисления образцов соляной кислотой.

Детектирование осуществляли на длинах волн: 265 нм (галловая кислота, протокатеховая кислота), 280 нм (катехин, эпикатехин, эпикатехингаллат, сиреневая кислота), 312 нм (кофейная кислота, хлорогеновая кислота, резвератрол), 354 нм (рутин, кверцетин), 525 нм (антоцианы и их производные).

Идентификацию мономерных полифенолов в концентрате «Эноант» производили методом добавок чистых веществ, по спектральным характеристикам индивидуальных веществ, известным по литературным данным, а также сопоставлением периодов времени удерживания чистых веществ и определяемых компонентов.

Аналогичные определения произвели для виноматериала «Каберне» урожая 2004 года, полученного по классической технологической схеме «по-красному» в совхоз-заводе им. П. Осипенко (г. Севастополь, АР Крым).

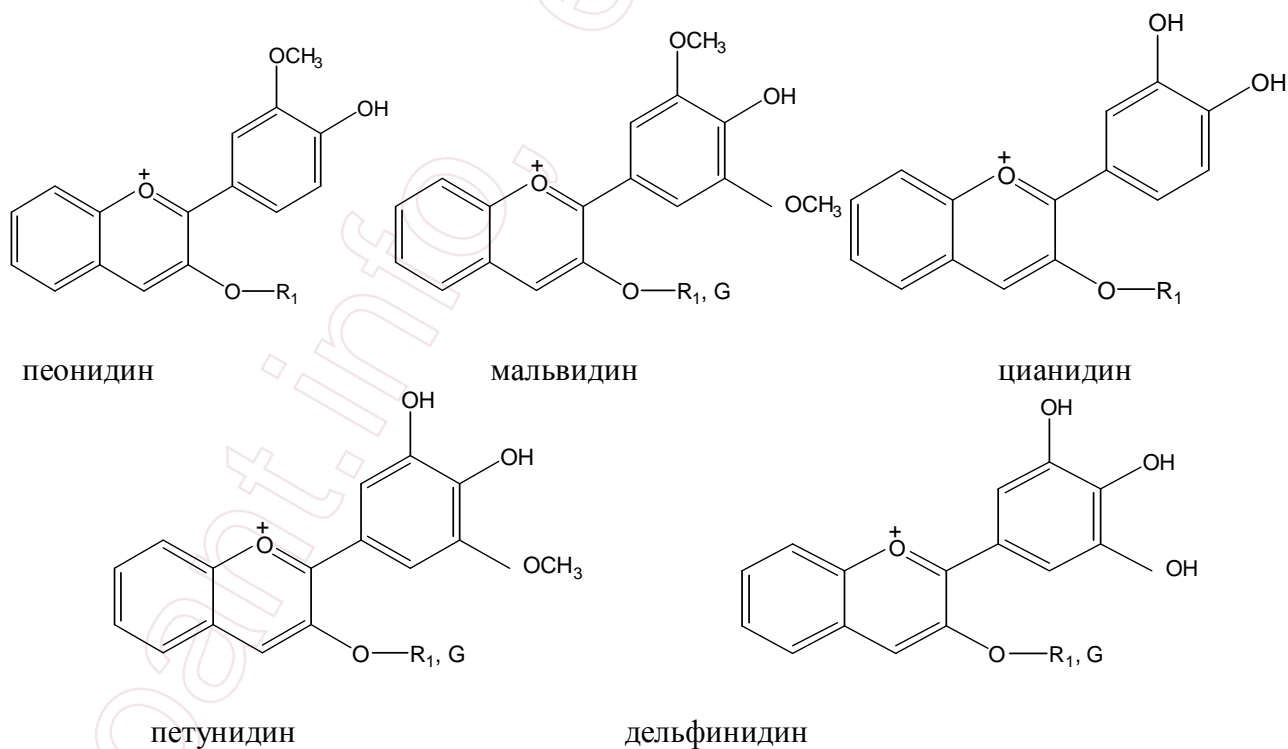
### Результаты.

Мономеры флавоноидов антоциановой группы, создающие характерную рубиновую окраску, найденные в виноматериале «Каберне» и концентрате «Эноант», представлены в таблице 1 и на рисунке 1.

Таблица 1

Мономерные антоцианы и их производные.

Компонент Продукт	Мальвидин и его про- изводные, мг/дм <sup>3</sup>	Цианидин и его про- изводные, мг/дм <sup>3</sup>	Дельфинидин и его производные, мг/дм <sup>3</sup>	Пеонидин и его произ- водные, мг/дм <sup>3</sup>	Петунидин и его произ- водные, мг/дм <sup>3</sup>
Концентрат «Эноант»	101,5	4,1	13,9	13,2	2,9
Винноматериал «Каберне»	74,1	4,6	16,6	21,5	3,1



где R1 – Glu, Gal, Arab; G – остаток уксусной или кумаровой кислот

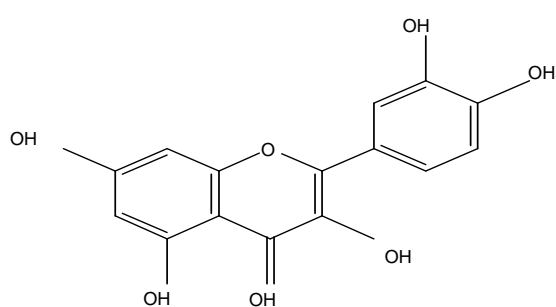
Рис.1. Структурные формулы мономерных антоцианов и их производных.

Другие мономерные флавоноиды, обычно присутствующие в кожице виноградной ягоды наряду с антоцианами – кверцетин и рутин, а также флавонолы виноградных семян и их производные (катехин, эпикатехин, эпикатехингаллат), обнаруженные в виноматериале и концентрате, представлены в таблице 2 и на рисунке 2.

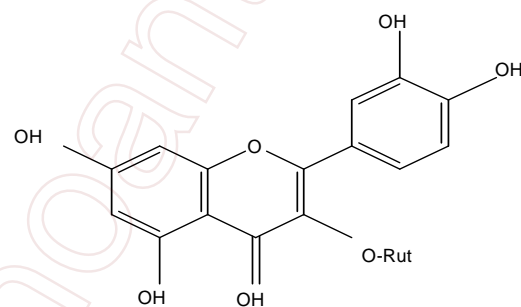
Таблица 2.

Мономерные флавоноиды и их производные.

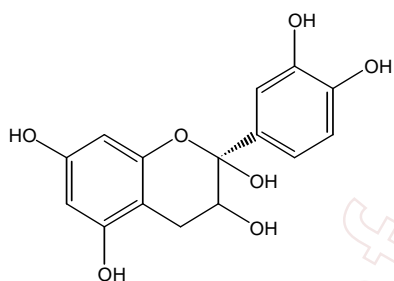
Компонент Продукт	Кверцетин, мг/дм <sup>3</sup>	Рутин, мг/дм <sup>3</sup>	(+) Катехин, мг/дм <sup>3</sup>	(-) Эпикатехин, мг/дм <sup>3</sup>	(-) Эпикатехин-галлат, мг/дм <sup>3</sup>
Концентрат «Эноант»	136,6	22,0	553,0	137,8	127,6
Виноматериал «Каберне»	6,9	2,2	0	26,0	0



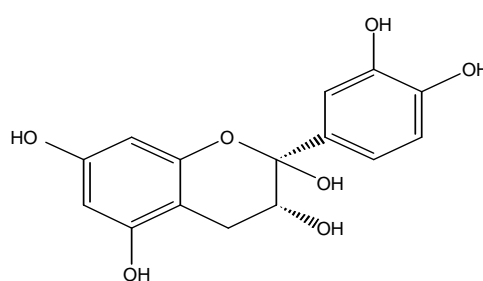
кверцетин



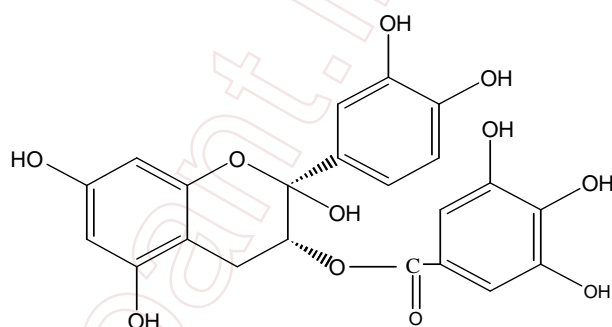
рутин



(+) катехин



(-) эпикатехин



(-) эпикатехингаллат

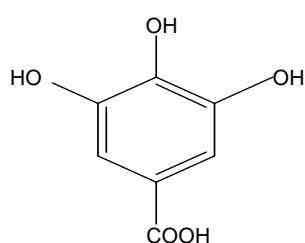
Рис.2. Структурные формулы мономерных флавоноидов и их производных.

Среди мономерных нефлавоноидных полифенолов винограда нами были идентифицированы оксикарбоновые кислоты и резвератрол, представленные в таблице 3 и на рисунке 3.

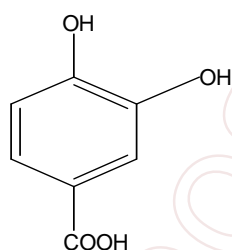
Таблица 3.

Мономерные нефлавоноидные полифенолы винограда.

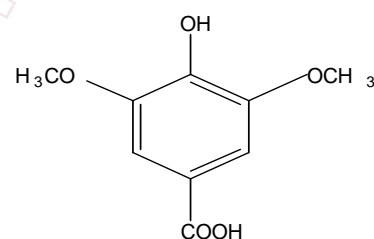
Компонент Продукт	Галловая кислота, мг/дм <sup>3</sup>	Сиреневая кислота, мг/дм <sup>3</sup>	Кофейная кислота, мг/дм <sup>3</sup>	Протокате- ховая кислота, мг/дм <sup>3</sup>	Хлороге- новая кислота, мг/дм <sup>3</sup>	trans-ресве- ратрол, мг/дм <sup>3</sup>
Концентрат «Эноант»	925,7	133,9	8,3	2,5	2,7	2,6
Виномате- риал «Каберне»	63,7	0	0,9	1,5	157,5	0,6



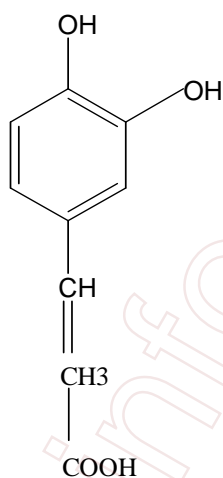
галловая кислота



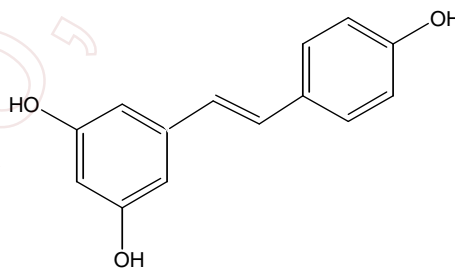
протокатеховая кислота



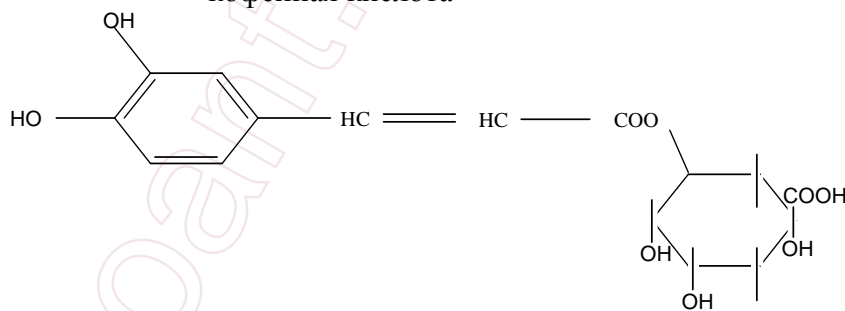
сиреневая кислота



кофейная кислота



trans - резвератрол



хлорогеновая кислота

Рис.3. Структурные формулы мономерных нефлавоноидных полифенолов винограда.

## Обсуждение.

Как видно из таблицы 1 и рисунка 1, мономерные флавоноиды антоциановой группы в виноматериале «Каберне» «по-красному» и в концентрате «Эноант» существуют как в ацилированном, так и в неацилированном виде. Это гликозиды мальвидина, дельфинидина, петунидина, пеонидина и цианидина, также ацетилированные гликозиды мальвидина, дельфинидина, петунидина и гликозид мальвидина, ацилированный паракумаровой кислотой. Основная часть мономерных антоцианов представлена мальвидин гликозидом и его производными (55 %).

Агликоны антоцианов гликозидированы глюкозой, арабинозой и галактозой. Мономерные антоцианы, найденные в виноматериале «Каберне» и концентрате «Эноант», идентичны как по составу, так и по количеству.

Мономерные флавоноиды, обычно присутствующие среди полифенолов кожицы виноградной ягоды, в концентрате «Эноант» и виноматериале «Каберне» представлены кверцетином и его гликозидом рутином (табл. 2, рис. 2). Других мономерных форм флавоноидов кожицы виноградной ягоды, известных по литературным данным – таких, как апигенин, генистеин и дайдзеин, нам обнаружить не удалось, что, по-видимому, связано с условиями экстракции этих веществ, исключающей их растворение при производстве виноматериала и концентрата. Из числа мономерных флавоноидов, локализованных в семенах виноградной ягоды, нами идентифицированы (+) катехин, (-) эпикатехин и (-) эпикатехингаллат (табл.2, рис. 2).

Обращает на себя внимание тот факт, что содержание мономерных флавоноидов кожицы и семян в концентрате «Эноант» многократно превосходит их содержание в виноматериале «Каберне». Особенно это относится к (+) катехину – наиболее восстановленной форме полифенолов винограда, которая обладает наибольшей антиоксидантной активностью [8].

Среди нефлавоноидных полифенолов винограда идентифицированы оксикарбоновые кислоты, такие как галловая, хлорогеновая, протокатеховая, кофейная, сиреневая а также стильбен – резвератрол (табл. 3, рис. 3). Не обнаружены известные по литературным данным паракумаровая, ванилиновая, синаповая, эллаговая и феруловая кислоты.

Как видно из таблицы 3, по количеству и составу мономерных нефлавоноидных полифенолов концентрат «Эноант» превосходит виноматериал «Каберне», при этом особенно заметно преимущество в содержании галловой кислоты, являющейся мощным антиоксидантом [8].

Анализируя полученные нами результаты идентификации части мономерных полифенолов в пищевом концентрате «Эноант» (табл. 1-3, рис. 1-3), можно видеть, что в

концентрате представлены мономерные полифенолы - как флавоноидной, так и нефлавоноидной природы. При этом среди флавоноидов выделяются (+) катехин, (-) эпикатехин и (-) эпикатехингаллат, кверцетин, мальвидин и его производные, а среди нефлавоноидов – галловая и сиреневая кислоты, составляющие основную часть известных мономерных полифенолов виноградной ягоды, обладающих выраженной антиоксидантной активностью [7].

Количественно мономерные полифенолы винограда, идентифицированные нами в концентрате «Эноант», составляют около 10 % от общего содержания полифенолов в концентрате, что, по-видимому, связано с тем, что основная масса полифенолов представлена их олигомерами и мономерными полифенолами винограда, еще не определенными в наших опытах, процианидинами, а также танином.

#### **Выводы.**

1. Мономерные полифенолы винограда, обладающие выраженной антиоксидантной активностью, в концентрате «Эноант» представлены в основном флавоноидами ((+) катехин, (-) эпикатехин, (-) эпикатехингаллат, кверцетин, мальвидин и его производные) и нефлавоноидами (галловая и сиреневая кислоты).
2. Среди других биологически активных мономерных полифенолов представлены также мономерные антоцианы и их производные (цианидин, дельфинидин, пеонидин, петунидин), оксикарбоновые кислоты (кофейная, протокатеховая, хлорогеновая), стилбенозид – trans-резвератрол.
3. По содержанию мономерных полифенолов винограда, определяющих антиоксидантную активность продукта ((+) катехин, (-) эпикатехин, (-) эпикатехингаллат, кверцетин, мальвидин и его производные, галловая и сиреневая кислоты), концентрат «Эноант» многократно превосходит виноматериал «Каберне».

#### **Перспективы.**

Исследования по идентификации в концентрате «Эноант» полифенолов винограда, обладающих биологической активностью, целесообразно продолжить. При этом основные усилия необходимо направить на определение содержания процианидинов и танинов, имеющих высокую антиоксидантную активность, а также производных и олигомеров других мономеров полифенолов.

### Список литературных источников.

1. Материалы международной научно-практической конференции «Биологически активные природные соединения винограда: перспективы производства и применения в медицине». – Симферополь. – 2001г. – 64 с.
2. Материалы научной конференции «Биологически активные природные соединения винограда: применение в медицине продуктов с высоким содержанием полифенолов винограда». – Симферополь – 2003г. – 201 с.
3. Огай Ю.А. Антиоксидантная активность суммарных полифенолов винограда концентрата «Эноант» // Магарач. Виноградарство и виноделие. – Ялта. – 2000. – № 1. – С. 37-38.
4. Огай Ю.А., Сластия Е.А. Антоцианы в составе полифенолов винограда пищевого концентрата «Эноант» // Магарач. Виноградарство и виноделие. – 2003. – № 1. – С.25-26.
5. Семёнов В.М., Ярош А.М.. Метод определения антиокислительной активности биологического материала / Украинский биохимический журнал. – 1985. – т.57. – С. 50-52.
6. ТУ У 00334830.018-99 Пищевой концентрат полифенолов винограда «Эноант», ИВиВ «Магарач».
7. Bombardelli E., Morazzoni P. *Vitis vinifera* L.// *Fitoterapia*. – LXVI.- N 4.- 1995.- pp 291-317.
8. Teissedre P.L., Walzem R.L., Waterhose A.L., German J.B., Frankel E.N., Ebeler S.E., Clifford A.J. Composes phenoliques du rasin, du vin et sante. // *Revue des Oenoloques*.- № 79.- 1996.- pp 7-14.