

На правах рукописи



ЗАЙЦЕВ Георгий Павлович

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА
НАСЫЩЕННОЙ ПОЛИФЕНОЛАМИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ
ПРОДУКЦИИ ИЗ ВИНОГРАДА КРАСНЫХ СОРТОВ**

Специальность 05.18.01 — Технология обработки, хранения и переработки
злаковых, бобовых культур, крупяных продуктов, плодоовощной продукции
и виноградарства

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата технических наук

Краснодар – 2020

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия»

Научный руководитель: доктор технических наук,
Маркосов Владимир Арамович

Официальные оппоненты: **Бирюков Александр Петрович**
доктор технических наук, профессор
ФГБОУ ВО «Кубанский государственный технологический университет», заведующий кафедрой технологии виноделия и бродильных производств им. проф. А.А. Мержаниана

Миронова Елена Алексеевна
кандидат технических наук, доцент
ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет», доцент кафедры производства и переработки продуктов питания из растительного сырья

Ведущая организация: ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского»

Защита состоится «12» ноября 2020 года в «15⁰⁰» часов на заседании диссертационного совета Д.006.056.01 в ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия» по адресу: 350901 г. Краснодар, ул. им. 40-летия Победы, 39, т. 8(861)257-57-02.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия» <http://www.kubansad.ru>.

Автореферат разослан «__» сентября 2020 г.

Отзывы на автореферат в двух экземплярах, заверенные печатью организации, с указанием почтового адреса, телефона, электронной почты и сайта организации, фамилии, имени, отчества полностью, должности лица, подготовившего отзыв, просим направлять ученому секретарю диссертационного совета по адресу: 350901 г. Краснодар, ул. им. 40-летия Победы, 39; тел./факс. 8(861)257-57-02, e-mail: kubansad@kubannet.ru.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д.006.056.01
канд. с-х. наук



В.В. Соколова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Биологические активные свойства красных виноградных вин обусловлены наличием в них полифенолов винограда. Проблемным вопросом является оптимизация извлечения полифенолов, сосредоточенных в кожце и семенах винограда, а также обеспечение стабильности фенольных веществ. В связи с этим, исследования по разработке технологии производства насыщенной полифенолами биологически активной продукции из винограда красных сортов являются актуальными.

Степень научной разработанности темы исследования. Теоретические и технологические аспекты биологической активности красных виноградных вин, в связи с наличием в них полифенолов, получили развитие в трудах отечественных и зарубежных ученых: Дурмишидзе С.В., Валуйко Г.Г., Сиашвили А.И., Арпентина Г.Н., Агеевой Н.М., Панасюка А.Л., Маркосова В.А., Загайко А.Л., Masquelier Y., Borzeix M., Bombardelli E., Teissedre P.L. и др. Терапевтические свойства виноградных вин, известные в мировой лечебной практике, нашли официальное признание французской медицины, принявшей в 1934 году «Винотерапевтический кодекс доктора Эйло» по лечебному применению бордосских вин при различных патологиях. В СССР положительные результаты практического применения энотерапии были впервые получены профессором С.Р. Татевосовым на курортах Республики Крым при лечении сухими виноградными винами сердечно-сосудистых и других заболеваний.

В технологии производства столовых виноградных вин массовая концентрация фенольных веществ не нормируется. В то же время известно, что современные промышленные технологии производства красных вин позволяют достигать концентрации фенольных веществ в диапазоне 1,5–5 г/дм³. Не получила признание отечественной медицины рекомендуемая норма регулярного ежедневного потребления красного виноградного вина 0,15–0,3 дм³ для снижения риска сердечно-сосудистых заболеваний, что, по-видимому, связано с опасениями возникновения условий для алкоголемии.

Цель работы – научно обоснованное совершенствование технологии получения продукции, обогащенной полифенольными соединениями винограда красных сортов, обладающей повышенной биологической активностью, и методологии ее стандартизации.

Для достижения поставленной цели диссертационного исследования осуществляли решение следующих **задач**:

- провести анализ научно-технической информации о взаимосвязи

биологической активности, гигиенических и лечебно-профилактических свойств красных вин, концентратов и другой продукции с полифенолами винограда;

- выделить наиболее перспективные источники полифенольных соединений виноградного растения (с точки зрения доступности сырья и прогнозируемой биологической активности);
- оценить сырьевой потенциал полифенолов в сладкой выжимке различных красных технических сортов винограда, культивируемого в Республике Крым и в Краснодарском крае;
- установить закономерности изменения концентрации фенольных веществ в выжимке в процессе ее технологической переработки (на примере сорта винограда Каберне-Совиньон);
- провести мониторинг фактического содержания фенольных веществ, антирадикальной и антиоксидантной активности в винопродукции традиционного производства из торговой сети и опытной продукции;
- установить критерии, определяющие потенциал биологической активности продукции, насыщенной полифенолами винограда;
- оценить биологическую активность *in vitro*, *in vivo* и провести клинические испытания при реабилитации больных с сердечно-сосудистой патологией в санаторных условиях насыщенной полифенолами (на установленном уровне) экспериментальной продукции – красного столового вина, винного напитка, экстракта полифенолов из сброженной выжимки;
- разработать и утвердить техническую документацию на производство продукции из винограда красных сортов (вино, винный напиток, экстракт полифенолов из сброженной выжимки), насыщенную полифенолами на заданном уровне;
- разработать и утвердить методические рекомендации по применению экспериментальной продукции, насыщенной полифенолами винограда, для реабилитации больных ишемической болезнью сердца и гипертонической болезнью при санаторно-курортном лечении.
- дать оценку экономического и социального эффекта от внедрения усовершенствованных технологий.

Научная новизна.

- Установлены закономерности изменения концентрации фенольных веществ в выжимке в процессе ее технологической переработки (на примере сорта винограда Каберне-Совиньон).
- Впервые, по результатам оценки биологической активности продуктов

переработки винограда *in vivo*, установлен уровень содержания (не менее 2,5 г/дм³) фенольных веществ в сухих красных винах, обуславливающий биологический эффект при ежесуточной адекватной дозе спирта.

- Впервые массовая концентрация фенольных веществ предложена в качестве параметра контроля качества и процесса производства биологически активных продуктов (сухих вин, винных напитков, экстрактов) из винограда.

- Впервые взаимосвязь антирадикальной и антиоксидантной активности продуктов виноделия из красных сортов винограда и массовой концентрации фенольных веществ математически описана уравнением, позволяющим рассчитывать значения антирадикальной и антиоксидантной активности по содержанию фенольных веществ с ошибкой не более $\pm 10\%$ и $\pm 15\%$ соответственно.

- Установлено, что насыщенные полифенолами винограда продукты (вино, винный напиток, экстракт из сброженной выжимки) обладают потенциалом функциональной активности при минимальной суточной дозе полифенолов 10 мг/кг массы тела при реабилитации кардиологических больных.

- Новизна технологических решений подтверждена патентами на изобретения: RU2654667C1, 13.12.2016, RU2668815C1, 10.04.2017.

Теоретическая и практическая значимость работы. Теоретическое значение диссертационного исследования состоит в создании научно обоснованного подхода к совершенствованию технологии продукции из винограда красных сортов в качестве продуктов «здорового питания» и нормировании содержания биологически активных фенольных веществ. Впервые, на основе анализа динамики изменений состава фенольных веществ, теоретически обоснована и практически доказана применимость сброженной выжимки винограда в качестве сырья для производства продукции, обогащенной полифенольными соединениями винограда с повышенной биологической активностью.

Разработана новая, насыщенная полифенолами, биологически активная продукция из винограда: вино столовое красное «Здоровье» (ТИ 9171-002-00831617-2015), напиток винный «Здоровье» (ТИ 9171-003-00831617-2015) и экстракт полифенолов (ТИ 9176-001-00831617-2015). Новая продукция с положительным результатом прошла испытания на биологическую активность *in vivo*, апробирована клинически, а также рекомендована к внедрению в методических рекомендациях «Применение энотерапии с использованием насыщенных полифенолами винограда продуктов в комплексном санаторно-

курортном лечении больных с сердечно-сосудистой патологией», утвержденных министерством здравоохранения Республики Крым 27.05.2019.

Методология и методы исследований.

Результаты исследований по теме диссертационной работы получены с применением методологии экспериментального микровиноделия для моделирования промышленных технологических процессов. Контролируемые параметры определяли с использованием стандартных методик анализа физико-химических, органолептических, медико-биологических характеристик. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили согласно общепринятым методам математического анализа.

Основные положения, выносимые на защиту:

- научное обоснование совершенствования технологии производства биологически активной продукции с нормированным и стабильным содержанием фенольных веществ из винограда красных сортов;
- характеристика состава и свойств фенольного комплекса выжимки красных сортов винограда и инновационной продукции;
- показатели качества нового вида биологически активной продукции.

Степень достоверности и апробация результатов.

Основные положения и результаты диссертационного исследования доложены на научно-практических международных конференциях и симпозиумах: Международной конференции «Advanced Bioactive Compounds Countering the Effect Radiological, Chemical and Biological Agents», Crimea, Ukraine, May 15–17, 2012; IX Международной конференции «Биоантиоксидант», Москва, 2015; Международной научно-практической конференции «Материалы и методы инновационных исследований и разработок», Челябинск, 2016; XVII Международной научно-практической конференции «Инновационные технологии в пищевой промышленности», Минск, 2018; Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы виноградарства и виноделия: фундаментальные и прикладные аспекты», Ялта, 2018; X Международном Симпозиуме «Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты», г. Москва, 2018; Конференции «Медицинский туризм. Медицинская реабилитация и санаторно-курортное лечение. Физиотерапия», г. Симферополь, 2019; XI Всероссийской научной конференции с международным участием и школе молодых ученых «Химия и технология растительных веществ», Сыктывкар, 2019.

Личное участие автора. Диссертационная работа является обобщением научных исследований, проведенных лично автором в 2005–2020 гг. Автор

участвовал в разработке программы исследований, постановке и выполнении методик исследований, получении экспериментальных данных, анализе результатов исследований и подготовке по ним публикаций.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 32 научные работы, из них 5 статей, индексируемых в базе данных Scopus, 9 статей в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, 1 монография, получено 2 патента на изобретения.

Структура и объем диссертационной работы. Диссертация изложена на 185 страницах и включает: введение, обзор литературы, объекты и методы исследований, экспериментальную часть, расчет ожидаемого экономического эффекта, заключение, список использованной литературы, содержащий 148 источников (в том числе 53 на иностранном языке) и 19 приложений. Иллюстрационный материал представлен 19-ю рисунками, 28-ю таблицами.

Базовые исследования диссертационной работы выполнены по проекту «Разработка технологий производства новых видов продукции из красных сортов винограда, обладающих антиоксидантными и антирадикальными свойствами, для применения в энотерапии Крыма и Кубани» в рамках соглашения с Минобрнауки РФ о предоставлении субсидии № 14.604.21.0077 от 27.06.14г., № госрегистрации 115011270159.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении сформулированы актуальность работы, степень ее разработанности, цель и задачи исследований, научная новизна, практическая и теоретическая значимость, методология и методы исследования, положения, выносимые на защиту, а также степень достоверности и апробация результатов исследования.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Проведен анализ информации по качественному и количественному составу полифенолов виноградных вин и безалкогольных концентратов, рассмотрены их основные биологически активные свойства. Приведены величины адекватного и верхнего допустимого уровня суточного потребления различных классов полифенолов для взрослых. Сделан обзор гигиенических и лечебно-профилактических свойств полифенолов в винах и безалкогольных концентратах. Рассмотрены современные тенденции: в методах определения антирадикальных и антиоксидантных свойств в винодельческой продукции, развития технологии виноделия и других пищевых продуктов для здорового питания, содержащих полифенолы винограда.

ГЛАВА 2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Схема исследований приведена на рисунке 1.

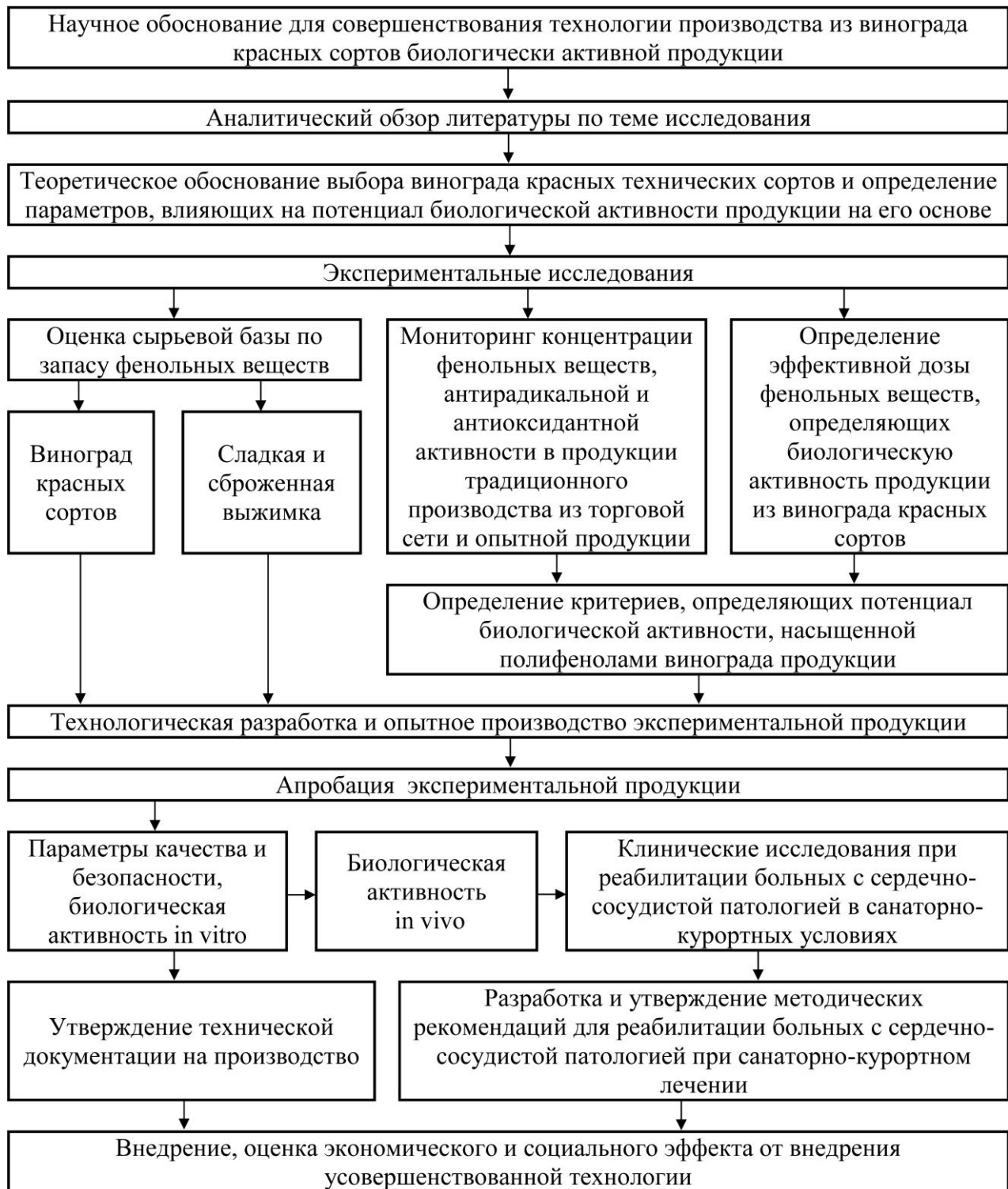


Рисунок 1 – Структурная схема исследований

Объектами исследований являлись закономерности изменений состава полифенольных соединений винограда при использовании различных технологических приемов в производстве виноградных вин и продукции

специального назначения. С этой целью было проведено комплексное исследование различных образцов, содержащих полифенольные соединения:

- экспериментальные образцы спиртовых и безалкогольных концентратов: сладкой и сброженной выжимки красных сортов, семян и лозы винограда, (место сбора – Республика Крым и Краснодарский край);

- экспериментальные образцы: красного столового вина «Здоровье» (ТИ 9176-002-00831617-2015), красного винного напитка «Здоровье» (ТИ 9176-003-00831617-2015), экстракта полифенолов винограда (ТИ 9176-001-00831617-2015), изготовленные в рамках соглашения с Минобрнауки РФ о предоставлении субсидии № 14.604.21.0077 от 27.06.14г.;

- безалкогольные виноградные пищевые концентраты: «Эноант», «Эноант Премиум», «Фэнокор», производства ООО «Рессфуд» г. Ялта;

- образцы продукции из торговой сети Республики Крым и Краснодарского края: сухие столовые вина и виноматериалы, полусухие и полусладкие столовые вина (ГОСТ 32030-2013), соки виноградные (ГОСТ 32920-2014), игристые вина (белые, розовые и красные – ГОСТ 33336-2015).

Определение органолептических показателей вин и виноматериалов проводили по требованиям ГОСТ 32030-2013. Качественный и количественный состав полифенолов в соках, винах, концентратах полифенолов винограда определяли методом ВЭЖХ с использованием хроматографической системы Agilent Technologies (модель 1100) по авторской методике. Массовую концентрацию фенольных веществ определяли колориметрическим методом с помощью реактива Фолина-Чокальтеу. Для оценки антирадикальной активности использовали прибор «Photochem». Для оценки антиоксидантной активности использовали прибор «Цвет Яуза-01-АА». Тролокс (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновая кислота) был принят за стандарт для оценки антирадикальной и антиоксидантной активности. Результаты исследований обрабатывали стандартными методами математической статистики. Количественные значения по оценке измеряемых показателей в таблицах представлены в формате: $M \pm m$ ($p < 0,05$).

Медицинские исследования *in vivo* проводились на кафедре общей и клинической патофизиологии Медицинской академии им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского». Изучение биологических эффектов экспериментальных образцов осуществляли на модели метаболического синдрома, ишемии и гипоксии у белых крыс, согласно разработанным нами программам и методикам исследований. Для оценки биологической активности в сыворотке крови животных исследовали:

концентрацию активных продуктов тиобарбитуровой кислоты и внутриклеточного антиокислительного фермента – супероксиддисмутазы, пероксидазоподобную и каталазоподобную активность.

Клинические исследования комплексной санаторно-курортной реабилитации с применением новой продукции были проведены на базе ГУП Республики Крым «Санаторий Ай-Петри», г. Ялта. Клиническое состояние больных с ишемической болезнью сердца и гипертонической болезнью оценивали в начале и в конце срока лечения по стандартным для санаторно-курортной практики методикам.

ГЛАВА 3 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

3.1 Обоснование выбора винограда красных технических сортов для производства насыщенной полифенолами биологически активной продукции

3.1.1 Исследование качественного и количественного состава полифенолов винограда основных красных технических сортов, культивируемых для промышленного виноделия

Результаты исследования состава полифенолов в сладкой виноградной выжимке винограда красных сортов показаны в таблице 1.

Таблица 1 - Полифенольный состав выжимки винограда красных сортов урожая 2015 г (пересчет на сухую массу)

Наименование полифенолов	Бастардо Магара- чский	Рубиновый Магара- ча	Голубок	Каберне- Совиньон
Антоцианы моногликозиды, мг/кг	11805±248	20003±400	5675±131	7770±148
Антоцианы дигликозиды, мг/кг	—	—	22528±518	—
Кверцетин-3-О-глюкозид, мг/кг	402±8	690±14	162±4	46±1
Кверцетин, мг/кг	44±1	199±4	16±1	177±3
(+)-D-Катехин, мг/кг	4060±85	1947±39	2865±66	2138±41
(-)-Эпикатехин, мг/кг	1673±35	1191±24	1733±40	1849±35
Кафтаровая кислота, мг/кг	303±6	348±7	111±3	9±0,2
Галловая кислота, мг/кг	67±1	69±1	79±2	54±1
Сиреневая кислота, мг/кг	55±1	49±1	110±3	62±1
Олигомерные процианидины, мг/кг	11562±243	11191±224	13401±308	6000±114
Полимерные процианидины, мг/кг	187866 ±3945	272394 ±5448	120157 ±2764	115300 ±2191
Сумма полифенолов (ВЭЖХ), г/кг	217,84 ±4,58	308,08 ±6,16	166,84 ±3,84	133,41 ±2,54
Фенольные вещества, г/кг	68,55±1,37	110,45±2,21	57,59±1,15	49,23±0,98

Как видно из таблицы 1, содержание фенольных веществ в сладкой выжимке винограда красных сортов находится в широком диапазоне и в представленных образцах достигает значений 49,2–110,5 г/кг сухой массы, а наибольшая сумма полифенолов выявлена в выжимке винограда сорта Рубиновый Магараха. Качественный состав полифенолов идентичен во всех исследованных сортах винограда, за исключением гибридного сорта Голубок, где в антоциановом комплексе доминируют дигликозиды.

На примере сорта Каберне-Совиньон (таблица 2) исследован потенциал виноградной выжимки урожая 2015 г (ГП совхоз-завод им. П. Осипенко) как сырьевого источника полифенолов. Содержание фенольных веществ в сладкой выжимке достигает 54,94 г/кг сухой массы, что достоверно превышает ($p < 0,05$) аналогичный показатель для сброженной выжимки в 1,16 раза.

Таблица 2 – Полифенольный состав сладкой и сброженной выжимки винограда сорта Каберне-Совиньон (пересчет на сухую массу)

Наименование полифенолов	Сладкая	Сброженная	Разность, в %
Сумма антоцианов, мг/кг	5099±82	1711±25	66,5
Кверцетин-3-О-глюкозид, мг/кг	166±3	130±2	21,6
Кверцетин, мг/кг	71±1	59±1	15,9
(+)-D-Катехин, мг/кг	827±13	781±11	5,5
(-)-Эпикатехин, мг/кг	635±10	582±9	8,3
Кафтаровая кислота, мг/кг	59±1	26±1	56,3
п-Кумаровая к-та, мг/кг	19±1	6±1	69,7
Галловая кислота, мг/кг	1190±19	141±2	88,2
Сиреневая кислота, мг/кг	105±2	43±1	58,9
Олигомерные проантоцианидины, мг/кг	4571±74	1257±18	72,5
Полимерные проантоцианидины, мг/кг	82461±1330	81969±1205	0,6
Сумма полифенолов (ВЭЖХ), г/кг	95,20±1,54	86,70±1,28	8,9
Фенольные вещества, г/кг	54,94±0,32	47,40±0,29	13,7

По результатам таблицы 2 наибольшей убыли в виноградной выжимке после брожения подвергается содержание: фенолокислот 56,3–88,2%, антоцианов 66,5%, а также олигомерных процианидинов – 72,5 %. Наименьшая убыль характерна для концентрации полимерных процианидинов – 0,6%, (+)-D-катехина – 5,5 % и (-)-эпикатехина – 8,3%.

В составе полифенолов сладкой и сброженной выжимки представлены идентичные флавоноиды (антоцианы, флавоны, флаван-3-олы), оксикоричные и оксibenзойные кислоты, олигомерные и полимерные процианидины. При этом, процианидины являются основными полифенолами виноградной выжимки: ~80–92% для сладкой и ~96% для сброженной сорта Каберне-Совиньон.

3.1.2 Мониторинг содержания фенольных веществ, антирадикальной и антиоксидантной активности в соках, игристых винах, столовых сухих красных винах, экстрактах и концентратах выжимки и семян.

Исследования проведены в 4 образцах виноградных соков, 26-ти образцах игристых вин, 4-х образцах столовых сухих виноматериалов и 13-ти столовых сухих вин из винограда красных сортов, приобретенных в торговой сети Республики Крым и на Кубани, а также в 11-ти опытных образцах спиртовых экстрактов и 2-х безалкогольных концентратах («Эноант», «Эноант Премиум») из выжимки винограда красных сортов, 4-х образцах спиртовых экстрактов и 1 безалкогольном концентрате («Фэнокор»), произведенных из виноградных семян различных сортов.

Детальный анализ результатов исследования показал однозначную взаимосвязь показателей антирадикальной и антиоксидантной активности с концентрацией фенольных веществ для всех групп продукции, кроме белых и розовых игристых вин, где антиоксидантная активность не коррелировала с концентрацией фенольных веществ ($R=-0,3785$ для белых и $R=-0,3430$ для розовых игристых вин). Выявить более достоверную взаимосвязь показателей антирадикальной или антиоксидантной активности с концентрацией какого-нибудь из компонентов или даже суммы компонентов не удалось.

Наличие групп продукции с высокими значениями коэффициентов корреляции показателей антирадикальной и антиоксидантной активности с концентрацией фенольных веществ позволяет сделать вывод о влиянии на антиоксидантно-антирадикальные характеристики в них основных по содержанию групп полифенолов – процианидинов и суммы процианидинов с флаван-3-олами. Перечисленные группы полифенолов однозначно вносят наибольший вклад в измеряемый показатель концентрации фенольных веществ.

В составе веществ фенольного комплекса всей испытуемой продукции представлены: флавоны, флаван-3-олы, оксикоричные и оксибензойные кислоты, олигомерные и полимерные процианидины, при этом процианидины составляют 67,1–97,7% от общего количества суммы определяемых полифенолов. Единственным исключением являются антоцианы, которые не содержатся в образцах, произведенных из семян и белого винограда.

Коэффициенты корреляции антиоксидантно-антирадикальных показателей с концентрацией фенольных веществ, а также диапазон: концентрации фенольных веществ, антирадикальной и антиоксидантной активности, коэффициентов активности для испытуемых групп продукции представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Диапазон величин концентрации фенольных веществ и антиоксидантно-антирадикальных показателей в продукции, полученной из винограда

Группа продукта	Концентрация фенольных веществ, г/дм ³ (С.ФВ)	Антирадикальная активность, г/дм ³ (АРА)	Антиоксидантная активность, г/дм ³ (АОА)	АРА/АОА	АРА/С.ФВ	АОА/С.ФВ
Соки виноградные	0,16–0,40	0,12–0,18 *R=0,9763	0,12–0,16 *R=0,9960	0,99–1,15 *R=0,7990	0,15–0,71 *R=–0,9225	0,39–0,72 *R=–0,9756
Игристые белые	0,21–0,42	0,49–0,73 *R=0,8591	0,50–0,59 *R=–0,3785	0,87–1,37 *R=0,8985	1,67–2,38 *R=–0,8447	1,29–2,73 *R=–0,9143
Игристые розовые	0,31–0,44	0,64–0,82 *R=0,8420	0,53–0,64 *R=–0,3430	1,10–1,46 *R=0,9649	1,73–2,12 *R=–0,8092	1,22–1,85 *R=–0,9447
Игристые красные	1,28–2,35	2,66–4,46 *R=0,9811	0,84–1,42 *R=0,9376	3,14–3,71 *R=–0,2260	1,81–2,08 *R=–0,6676	0,53–0,66 *R=–0,2656
Вина сухие красные	2,14–3,05	4,95–6,18 *R=0,9216	1,59–2,35 *R=0,9091	2,63–3,28 *R=–0,4692	2,03–2,37 *R=–0,7959	0,67–0,77 *R=–0,1006
Виноматериалы сухие красные	3,02–4,33	6,56–8,77 *R=0,9465	1,72–2,20 *R=0,9530	3,72–4,11 *R=0,0964	2,03–2,34 *R=–0,6669	0,51–0,57 *R=–0,8064
Экстракты и концентраты выжимки красных сортов	12,65–22,69	44,90–83,35 *R=0,8220	7,18–15,26 *R=0,7827	5,46–6,75 *R=–0,4374	2,84–4,18 *R=–0,4602	0,46–0,70 *R=–0,1736
Экстракты и концентраты виноградных семян	34,07–82,69	185,53–466,54 *R=0,9981	28,44–76,65 *R=0,9845	5,31–7,03 *R=–0,2513	5,45–5,86 *R=–0,0283	0,83–1,05 *R=0,2284

* – Коэффициент корреляции R между концентрацией фенольных веществ и соответствующим

антиоксидантно-антирадикальным показателем рассчитан для каждой группы продукта.

Средние значения процентного содержания основных групп полифенолов, коэффициенты активности АРА/АОА и АРА/С.ФВ (кроме АОА/С.ФВ) в испытуемой продукции в ряду от соков виноградных до экстрактов и концентратов виноградных семян имеют общую тенденцию к увеличению.

Было обнаружено, что для каждой группы продукции средние значения коэффициентов активности лежат в определенном диапазоне значений, кроме показателя АОА/С.ФВ, где наблюдалась слабая и обратная корреляция при $R = -0,4634$. Для коэффициентов активности АРА/АОА и АРА/С.ФВ наблюдалась высокая степень влияния содержания основных групп.

В результате дальнейших исследований установлено, что фенольными компонентами испытуемой продукции, способными в наибольшей степени влиять на потенциал биологической активности (антирадикальная активность), оказались процианидины в сумме с флаван-3-олами. Являясь родственными и основными по содержанию компонентами полифенольной природы в испытуемой продукции (71,3–99,3%), они, вероятно, вносят основной вклад в тот уникальный, присущий винограду, потенциал биологической активности.

Анализ экспериментальных данных для испытуемой винопродукции из винограда красных сортов показал наличие взаимосвязи между концентрацией фенольных веществ и показателями антирадикальной и антиоксидантной активности. По этим данным были смоделированы корреляционно-детерминированные зависимости, рисунки 2 и 3.

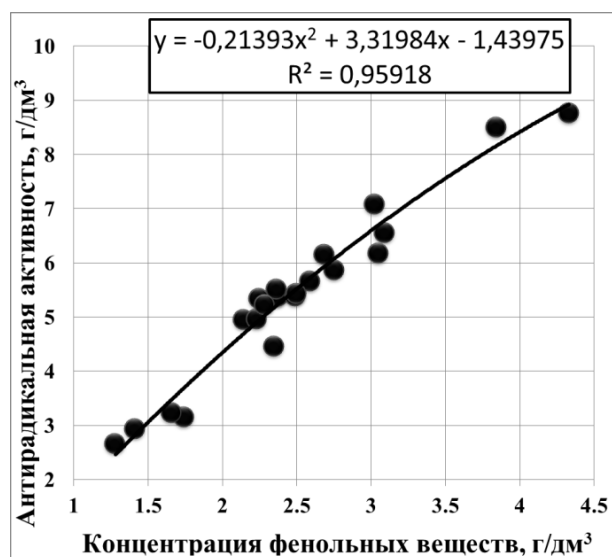


Рисунок 2 – Зависимость антирадикальной активности от массовой концентрации фенольных веществ

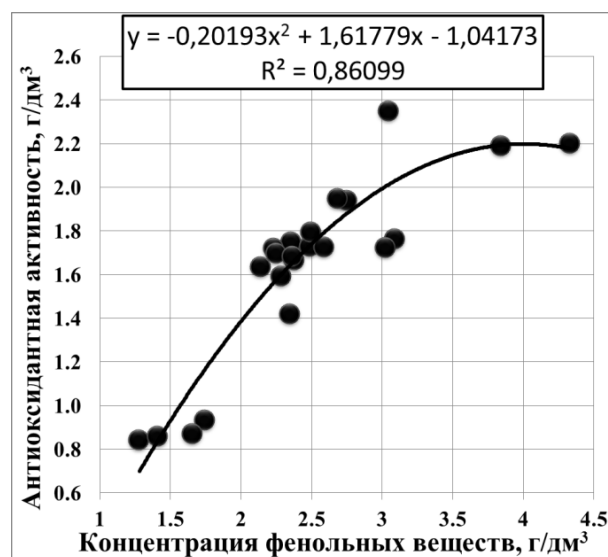


Рисунок 3 – Зависимость антиоксидантной активности от массовой концентрации фенольных веществ

Уравнения корреляционных зависимостей, представленные на рисунках 2 и 3, позволяют для винопродукции из красных сортов винограда рассчитывать значения антирадикальной и антиоксидантной активности по концентрации фенольных веществ с ошибкой не более $\pm 10\%$ и ± 15 соответственно. Полученные зависимости подтверждают обоснованность выбора концентрации фенольных веществ как достаточного показателя, косвенно характеризующего потенциал биологической активности продуктов из винограда красных сортов. В результате, возникает необходимость установления уровня концентрации фенольных веществ, гарантирующего высокую биологическую активность функциональных продуктов.

3.1.3 Определение эффективной дозы полифенолов, определяющих биологическую активность винопродукции из винограда красных сортов

Для оценки эффективной дозы ежедневного потребления полифенолов провели два эксперимента. Первый – с красным сухим виноматериалом из винограда сорта Каберне-Совиньон с концентрацией фенольных веществ $2,5 \text{ г/дм}^3$ на модели метаболического синдрома, вызванного кормлением животных фруктозой. Второй – с красным игристым вином «Премиум Каберне» с концентрацией фенольных веществ $2,35 \text{ г/дм}^3$ на модели циркуляторной гипоксии. В обоих экспериментах участвовали белые крысы-самцы массой 180–200 г. Опытные группы, кроме стандартного питания, получали разбавленный водой виноматериал или игристое вино.

Практически полная нормализация биохимических показателей (концентрация активных продуктов тиобарбитуровой кислоты и супероксиддисмутазы, пероксидазоподобная и каталазоподобная активность) в сыворотке крови экспериментальных животных на уровне контрольных животных происходила при коррекции метаболического синдрома виноматериалом в суточной дозе полифенолов $10,7 \text{ мг/кг}$ массы тела. При коррекции циркуляторной гипоксии красным игристым вином аналогичная доза полифенолов была выше и составила $11,8 \text{ мг/кг}$ массы тела.

Таким образом, в экспериментах *in vivo* показано, что полифенолы красных тихих и игристых вин в суточной дозе, из расчета $750\text{--}822 \text{ мг}$ на 70 кг массы тела ($\sim 300 \text{ см}^3$ вина), обладают выраженным потенциалом биологической активности, который соответствует рекомендованному в России адекватному уровню потребления полифенолов 500 мг для взрослого человека.

3.2 Разработка технологии получения экстракта полифенолов винограда из сброженной «по-красному» виноградной выжимки

Биологически активная ежедневная доза потребления красного виноградного вина, соответствующая 300 см^3 при концентрации полифенолов $2,5 \text{ г/дм}^3$, означает необходимость одновременного потребления 36 см^3 этанола, что сопоставимо с предельными дозами, допускаемыми отечественными токсикологами: 40 см^3 для мужчин и 20 см^3 для женщин. Основываясь на этом, нами разработан продукт,кратно превосходящий красные виноградные вина по концентрации фенольных веществ при одинаковом уровне содержания этанола (10–15% об.).

Принципиальная технологическая схема процесса получения экстракта полифенолов из сброженной виноградной выжимки показана на рисунке 4.

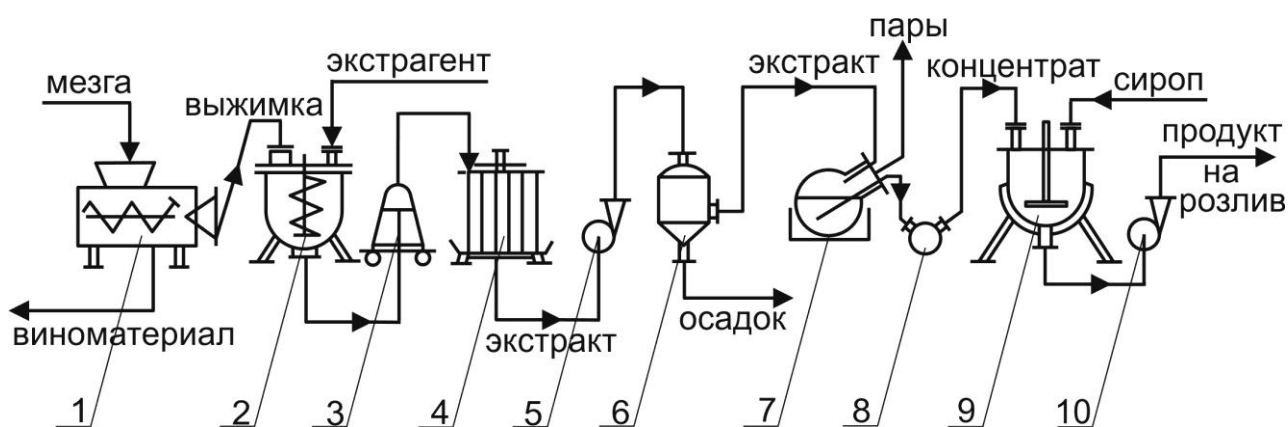


Рисунок 4 – Принципиальная технологическая схема получения экстракта полифенолов из сброженной виноградной выжимки

1 – пресс дожимочный; 2 – экстрактор; 3 – насос; 4 – пресс корзиночный; 5 – насос экстракта; 6 – отстойник; 7 – ротационный вакуумный испаритель; 8 – насос концентрата; 9 – купажер; 10 – продуктовый насос

Экстракт полифенолов винограда, полученный из сброженной виноградной выжимки по разработанному нами способу, сохранял стабильность полифенолов на высоком уровне в течение 12 месяцев наблюдений (патент РФ №2668815).

Апробация технологии производства стабильного экстракта полифенолов, в соответствии с нормативными СТО 00831617-001-2015 в условиях микровиноделия на винзаводе ООО «Долина» Темрюкского района Краснодарского края, подтвердила возможность получения экстракта полифенолов из сброженной выжимки с концентрацией фенольных веществ на уровне $21,5 \text{ г/дм}^3$.

3.3 Совершенствование технологии получения красного вина, насыщенного полифенолами винограда

В связи с тем, что отечественная нормативная документация на производство красных вин не регламентирует концентрацию фенольных веществ в продукте, нами были разработаны СТО 00831617-002-2015 и ТИ 9171-002-00831617-2015 на производство вина столового красного «Здоровье».

По физико-химическим показателям вино должно соответствовать следующим требованиям: объемная доля этилового спирта 10,5–15,0%, сахара не более 4,0 г/дм³, титруемые кислоты (в пересчете на винную кислоту) не менее 3,5 г/дм³, летучие кислоты (в пересчете на уксусную кислоту) не более 1,2 г/дм³, приведенный экстракт не менее 18,0 г/дм³, лимонная кислота не более 1,0 г/дм³, концентрация фенольных веществ не менее 2,5 г/дм³.

3.4 Разработка технологии получения напитка винного, насыщенного полифенолами винограда красных сортов

Алгоритм технологического процесса (рисунок 5), разработанный в соответствии с требованиями ГОСТ 31729-2015 на напитки винные и рекомендацией по внесению концентрата фенольных веществ в виноматериал (патент РФ №2654677), был применен при подготовке ТИ на производство напитка винного «Здоровье».



Рисунок 5 – Алгоритм технологического процесса получения напитка винного, насыщенного полифенолами винограда

Технологические требования к физико-химическим показателям напитка винного аналогичны показателям для вина столового красного «Здоровье», приведенным ранее.

3.5 Апробация экспериментальных образцов продукции, насыщенной полифенолами винограда красных сортов, на биологическую активность

3.5.1 Модель ишемического повреждения миокарда у экспериментальных животных (in vivo)

Экспериментальные образцы экстракта полифенолов винограда из сброженной выжимки и экспериментального вина «Здоровье» были подвергнуты испытанием in vivo на модели ишемического повреждения миокарда у крыс по разработанной нами программе и методике.

Уже через неделю ежедневного потребления экстракта полифенолов в дозе 0,25 см³/кг массы животных или экспериментального вина «Здоровье» в дозе 2,5 см³/кг массы животных происходила заметная коррекция ишемической кардиомиопатии, продемонстрировавшая цитопротекторные свойства полифенолов, позволяющие сохранить структуру миокарда.

Исследование подтвердило перспективность применения алкогольного экстракта полифенолов из сброженной виноградной выжимки и экспериментального вина «Здоровье» в профилактике кардиопатологии.

3.5.2 Клиническая реабилитация больных с ишемической болезнью сердца и гипертонической болезнью

Положительные результаты исследований биологической активности экспериментальной продукции, полученные in vivo, явились основанием проведения клинической оценки ее уровня лечебно-профилактического влияния при санаторно-курортном лечении больных с сердечно-сосудистой патологией. По результатам исследования клинических параметров у 83% пациентов с гипертонической болезнью имело место уменьшение или исчезновение ряда клинических симптомов на фоне улучшения общего состояния. У пациентов, получавших базовый курс лечения, отмечено уменьшение клинической симптоматики и жалоб лишь на 44%.

Положительный эффект применения экстракта полифенолов винограда и красного столового вина «Здоровье» наблюдался при анализе объективных параметров состояния сердечно-сосудистой системы у больных с сердечно-сосудистой патологией. Использование полифенолов дополнительно к базовому лечению способствовало снижению артериального давления и частоты сердечных сокращений.

Оценка результатов биохимического анализа крови больных, с точки

зрения окислительно-антиоксидантного гомеостаза, показала, что применение в диете полифенолов винограда привело к понижению уровня первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов и уровня окислительных и воспалительных процессов, что свидетельствует об уменьшении интенсивности свободнорадикального окисления. Следовательно, назначение полифенолсодержащих продуктов переработки красного винограда в комплексной терапии больных гипертонической болезнью и ишемической болезнью сердца при санаторно-курортном лечении оказывает не только гипотензивное действие, но и нормализует липидный обмен и активность антиоксидантной системы организма.

При оценке кардиопротекторной активности полифенолов винограда положительная динамика состояния здоровья опытных групп, в сравнении с контрольными группами, в большей степени проявилась в группах с ишемической болезнью сердца, рисунок 6.

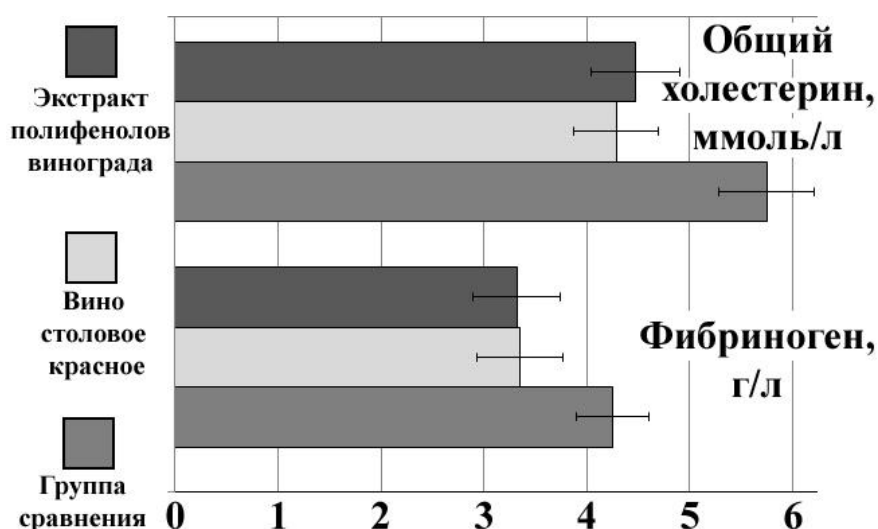


Рисунок 6 – Изменение биохимических показателей крови на фоне применения красного вина «Здоровье» и экстракта полифенолов у больных с ишемической болезнью сердца

На гистограммах рисунка 6 наблюдается достоверное ($p < 0,05$) снижение содержания общего холестерина и количества фибриногена в крови, что уменьшает риск образования тромбов и холестериновых бляшек в артериях.

Красное столовое вино «Здоровье» и экстракт полифенолов (при суточной дозе фенольных веществ 10 мг/кг массы тела) рекомендованы к использованию при реабилитации больных гипертонией и ишемической болезнью сердца при лечении в санаторных учреждениях.

4 Оценка социального и экономического эффекта от внедрения усовершенствованной технологии

Социальный эффект внедрения усовершенствованной технологии заключается в появлении возможности благотворно влиять на качество жизни и здоровье потребителей, повышении конкурентоспособности отечественных вин, престижа российской винодельческой и другой продукции из винограда.

Величина ожидаемого экономического эффекта от внедрения технологии производства вина столового красного «Здоровье» и напитка винного «Здоровье» при годовом объеме выпускаемой продукции 1000 дал. составит 325,87 руб./дал. и 66,77 руб./дал. соответственно. Ожидаемая рентабельность производства экстракта полифенолов из сброженной виноградной выжимки красных сортов, согласно расчетам, приведенным в диссертационной работе, составит 231,9 %, а тонна переработанного сырья даст доход 1 млн.54 тыс. руб. или 48 дал. экстракта полифенолов, с оптовой стоимостью 22 тыс. руб./дал.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Установлена связь биологической активности красных вин, концентратов и другой продукции с количественным содержанием фенольных веществ. Чем выше содержание фенольных веществ в продуктах, тем большую биологическую активность они проявляют. Показано, что качественный состав полифенолов винограда красных сортов, виноградной выжимки, соков, красных тихих столовых и игристых вин, концентратов полифенолов предприятий Республики Крым и Краснодарского края идентичен, а количественный представлен, в основном, процианидинами.

2. Наиболее перспективными, с точки зрения биологической активности, источниками сырья являются: сладкая и сброженная виноградные выжимки – как источники процианидинов, а также виноградная лоза – как источник стильбенов.

3. Наиболее богатой на полифенолы оказалась выжимка винограда сорта Рубиновый Магараха с содержанием фенольных веществ 110 г/кг сухой массы, что кратно превосходит содержание в выжимке винограда сорта Каберне-Совиньон, где содержание фенольных веществ находилось в диапазоне значений 28–55 г/кг сухой массы.

4. Качественный состав полифенолов сброженной выжимки винограда сорта Каберне-Совиньон свидетельствует об идентичности полифенолов сброженной и сладкой выжимки. Потенциал полифенолов, остающихся в сброженной выжимке при виноделии «по-красному» на примере

винограда сорта Каберне-Совиньон, составляет не менее 80% от содержания в сладкой выжимке. Наибольшей убыли подвергаются антоцианы и фенолокислоты.

5. Мониторинг концентрации фенольных веществ, антирадикальной и антиоксидантной активности показал, что вина из винограда красных сортов обладают значительным потенциалом биологической активности, при этом, показатель концентрации фенольных веществ в некоторых красных столовых сухих винах не превосходит среднеевропейский (2,5 г/дм³).

6. Количественно определен потенциал биологической активности полифенолов винограда сорта Каберне-Совиньон, соответствующий эффективной дозе полифенолов 10,7–11,8 мг/кг массы тела животных в сутки на экспериментальных моделях метаболического синдрома и циркуляторной гипоксии при потреблении тихого столового и игристого вина.

7. Установлено, что все экспериментальные продукты обладают выраженным потенциалом биологической активности, улучшая биохимические показатели крови экспериментальных животных и оказывая цитопротекторное действие на миокард. Потребление 10 мг полифенолов на 1 кг массы тела с экспериментальной продукцией – вином тихим столовым «Здоровье» и концентрированным экстрактом полифенолов – при комплексном санаторно-курортном лечении больных ишемической болезнью сердца и гипертонической болезнью снижало содержание общего холестерина и фибриногена в крови, по сравнению с базовым лечением.

8. Разработаны и утверждены технологии получения из винограда красных сортов вина столового красного и напитка винного «Здоровье», (патент РФ №2654667, СТО 00831617-002-2015, ТИ 9171-002-00831617-2015 ТИ 9171-003-00831617-2015), концентрированного экстракта полифенолов винограда из сброженной виноградной выжимки (патент РФ №2668815, СТО 00831617-001-2015, ТИ 9176-001-00831617-2015).

9. Разработаны и утверждены Минздравом Республики Крым методические рекомендации «Применение энотерапии с использованием насыщенных полифенолами винограда продуктов в комплексном санаторно-курортном лечении больных с сердечно-сосудистой патологией».

10. Экономический эффект от внедрения технологии производства вина столового красного «Здоровье» и напитка винного «Здоровье» составит 326 руб./дал. и 67 руб./дал. соответственно, а рентабельность производства экстракта полифенолов из сброженной виноградной выжимки красных сортов 232 %.

СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации, индексируемые в базе данных Scopus:

1. **Zaitsev G.P.**, Grishin Y.V., Mosolkova V.E., Ogay Y.A. Grape Cane as a Source of Trans-Resveratrol and Trans-Viniferin in the Technology of Biologically Active Compounds and Its Possible Applications // NATO Science for Peace and Security Series A: Chemistry and Biology. – 2012. – P 241–246.
2. **Зайцев Г.П.**, Мосолкова В.Е., Гришин Ю.В., Черноусова И.В., Огай Ю.А., Авидзба А.М. Фенольные компоненты винограда сорта Каберне-Совиньон винодельческих хозяйств Крыма // Химия растительного сырья. – 2015. – № 2. – С. 187–193.
3. Авидзба А.М., Кубышкин А.В., Гугучкина Т.И., Маркосов В.А., Кацев А.М., Наумова Н.В., Шрамко Ю.И., **Зайцев Г.П.**, Черноусова И.В., Огай Ю.А., Фомочкина И.И. Антиоксидантная активность продуктов переработки красных сортов винограда «Каберне-Совиньон», «Мерло», «Саперави» // Вопросы питания. – 2016. – Т.85, Ч.1. – С. 99–109.
4. Кубышкин А.В., Авидзба А.М., Борисюк В.С., Стоянов В.С., Фомочкина И.И., Огай Ю.А., Черноусова И.В., **Зайцев Г.П.**, Гугучкина Т.М., 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.
5. Кубышкин А.В., Авидзба А.М., Фомочкина И.И., Огай Ю.А., Ханферьян Р.А., Шрамко Ю.И., Маркосов В.А., Гугучкина Т.И., Агеева Н.М., **Зайцев Г.П.**, Черноусова И.В. Эффективность использования насыщенных полифенолами продуктов переработки винограда для профилактики метаболических нарушений в эксперименте // Вопросы питания. – 2017. – Т.86, Ч.1. – С. 100–107.

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК РФ:

6. Огай Ю.О., Соловьева Л.М., **Зайцев Г.П.**, Асатурян Ж.М., Занкаль Т.В., Виноградов Б.О., Катрич Л.И., Королесова В.Є. Розробка методики визначення диглікозидів антоціанів у столових винах методом ВЕРХ // Магарац. Виноградарство и виноделие. – 2008. – № 4. – С. 37.
7. **Зайцев Г.П.**, Катрич Л.И., Огай Ю.А. Полифенольные биологически активные компоненты красного сухого виноматериала из винограда сорта Каберне-Совиньон и пищевого концентрата «Эноант» // Магарац. Виноградарство и виноделие. – 2010. – № 3. – С. 25–27.
8. Соловьева Л.М., Гришин Ю.В., **Зайцев Г.П.** Особенности фенольного состава и антиоксидантная активность белых столовых вин // Магарац. Виноградарство и виноделие. – 2014. – № 3. – С. 38–39.
9. **Зайцев Г.П.**, Мосолкова В.Е., Гришин Ю.В., Черноусова И.В., Огай Ю.А., Авидзба А.М. Фенольный состав винограда сорта Каберне-Совиньон

Республики Крым // Магарац. Виноградарство и виноделие. – 2014. – № 4. – С. 28–30.

10. Авидзба А.М., **Зайцев Г.П.**, Черноусова И.В., Огай Ю.А., Кубышкин А.В., Фомочкина И.И., Кацев А.М., Наумова Н.В., Шрамко Ю.И., Гугучкина Т.И., Маркосов В.А. Анализ антиоксидантной активности продуктов переработки красных сортов винограда *in vitro*, *in vivo* // Вестник российской сельскохозяйственной науки. – 2016. – № 2. – С. 45–50.

11. Агеева Н.М., Маркосов В.А., Чемисова Л.Э., Огай Ю.А., Черноусова И.В., **Зайцев Г.П.** Исследования состава фенольного комплекса красных сортов винограда, произрастающего в Республике Крым и Краснодарском крае // Плодоводство и виноградарство Юга России. – 2016. – №37(01). – С.1–10.

12. Черноусова И.В., **Зайцев Г.П.**, Гришин Ю.В., Огай Ю.А., Меледина В.А., Маркосов В.А., Агеева Н.М., Гугучкина Т.И. Исследование фенольного состава и антиоксидантной активности игристых вин // Виноделие и виноградарство. – 2017. – №5. – С. 11–16.

13. Кубышкин А.В., Шрамко Ю.И., Фомочкина И.И., Огай Ю.А., Черноусова И.В., **Зайцев Г.П.**, Петренко В.И., Ефимова А.С. Роль полифенольных продуктов в коррекции психоэмоциональных и функциональных нарушений при санаторно-курортном лечении пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями // Вестник физиотерапии и курортологии. – 2018. – Т.24, № 4. – С. 8–12.

14. Черноусова И.В., **Зайцев Г.П.**, Гришин Ю.В., Мосолкова В.Е., Огай Ю.А., Маркосов В.А. Полифенолы винограда-пищевые функциональные ингредиенты тихих столовых и игристых вин // Магарац. Виноградарство и виноделие. – 2018. – №3. – С. 93–95.

Патенты РФ на изобретения

15. Патент 2668815 Российская Федерация, МПК C12G 3/00, C09K 15/34, C09B 61/00, A23L 2/00. Способ производства концентрированного экстракта полифенолов винограда / Авидзба А.М., Огай Ю.А., Черноусова И.В., **Зайцев Г.П.**, Маркосов В.А.; заявитель и патентообладатель ГБУ РК «ННИИ винограда и вина «Магарац». – № 2017112211; заявл. 10.04.2017; опубл. 02.10.2018, бюл. №28 – 5 с.

16. Патент 2654667 Российская Федерация, МПК C/12G 1/00. Способ производства вина, насыщенного полифенолами винограда / Авидзба А.М., Егоров Е.А., Огай Ю.А., Черноусова И.В., **Зайцев Г.П.**, Гугучкина Т.И., Агеева Н.М., Маркосов В.А.; заявитель и патентообладатель ГБУ РК «ННИИ винограда и вина «Магарац». – № 2016148955; заявл. 13.12.2016; опубл. 21.05.2018, бюл. №15 – 5 с.

Монография

17. Авидзба А.М., Агеева Н.М., Гугучкина Т.И., **Зайцев Г.П.**, Кубышкин А.В., Маркосов В.А., Огай Ю.А., Прах А.В., Черноусова И.В. Красные столовые вина: биохимия, технология, энотерапия – Краснодар: ФГБНУ СКЗНИСИБВ, 2016. – 192с.

Зайцев Георгий Павлович

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Подписано в печать 07.09.2020

Печать трафаретная. Формат 60×84 ¹/₁₆.

Усл. печ. л. 1,0. Тираж 120 экз. Заказ № 2189

Отпечатано в ООО «Издательский Дом – Юг»

350072, г. Краснодар, ул. Зиповская, 9, литер «Г», оф. 41/3,

Тел. +7(918) 41-50-571

e-mail: id.yug2016@gmail.com

Сайт: www.id-yug.com