

РЕГУЛИРОВАНИЕ СОСТАВА АНТОЦИАНОВ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ ВИНА ИЗ ЧЕРНОЙ СМОРОДИНЫ

С. С. Макаров, С. Ю. Макаров, А. Л. Панасюк

Цель данной работы состояла в изучении изменения качественного и количественного состава антоцианов в процессе производства вина из черной смородины с применением ферментативной мацерации мезги и определении наиболее эффективных способов повышения их концентрации в готовом продукте. Мезгу черной смородины обрабатывали по четырем схемам: тепловая мацерация; тепловая мацерация в сочетании с обработкой различными ферментными препаратами; ферментативная мацерация при оптимальной температуре для действия ферментов; ферментативная мацерация при низкой температуре. В соке черной смородины идентифицировано 11 антоцианов, большинство из которых представляет собой гликозиды дельфинидина и цианидина. Наибольшее извлечение антоцианов отмечено при обработке мезги ферментным препаратом Фруктоцим Колор при температуре 22-23 °С в течение четырех часов. Нагрев мезги до температуры 45 °С и выше приводил к интенсификации окислительно-восстановительных процессов и образованию нерастворимых комплексов антоцианов с азотистыми соединениями, в результате чего их суммарная концентрация снижалась. Показано, что в процессе брожения концентрация антоцианов снижалась от 18,7 % до 58,1 % в зависимости от расы используемых дрожжей. Рекомендовано для брожения черносмородинового суслу использовать расы Москва 30, Черносмородиновая 7 и UWY SP1. Отмечено усиление антиоксидантных свойств суслу и виноматериала из черной смородины при повышении суммарной концентрации антоцианов.

Ключевые слова: качественный и количественный состав антоцианов черной смородины, ферментативная мацерация мезги, брожение, расы винных дрожжей, антиоксидантная активность вина из черной смородины.

В настоящее время в России растет интерес к винам, произведенным из ягодного сырья, в том числе из черной смородины. Вина из черной смородины отличаются не только оригинальными вкусо-ароматическими характеристиками, но и наличием в их составе антоцианов [1–4]. Известно, что антоцианы обладают широким спектром биологических активностей, в том числе установлено, что они оказывают значительный положительный эффект на здоровье человека за счет их высокой поглотительной способности к свободным радикалам [5–9]. В связи с этим при производстве вина из черной смородины приоритетной является задача максимального извлечения и сохранения антоцианов сырья на всех технологических этапах.

Имеющиеся в научно-технической литературе материалы, касающиеся вопросов переработки ягод черной смородины, посвящены в основном проблеме извлечения соков из свежего и замороженного сырья. В частности, было показано, что обработка черносмородиновой мезги ферментными препаратами с выраженной полигалактуроназной активностью даже в наименьшей дозировке (1ПГА/1 г сырья)

значительно повышала выход сока и концентрацию антоцианов (в среднем на 58 %) по сравнению с контролем (без обработки) [10].

Исследования, связанные с изучением аспектов сохранения природных антоцианов сырья, направленные на разработку технологических решений повышения биологической ценности вин из черной смородины, в нашей стране не проводились.

Цель данной работы состояла в изучении изменения качественного и количественного состава антоцианов сока черной смородины в процессе производства вина с применением ферментативной мацерации мезги и определении наиболее эффективных способов повышения их концентрации в готовом продукте.

В качестве объектов исследования использовали свежие плоды черной смородины сорта Сударушка, черносмородиновое сусло, столовый виноматериал (вино) из черной смородины, полученный с использованием разных рас винных дрожжей.

Для получения суслу мезгу черной смородины обрабатывали в лабораторных условиях по следующим схемам.

РЕГУЛИРОВАНИЕ СОСТАВА АНТОЦИАНОВ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ ВИНА ИЗ ЧЕРНОЙ СМОРОДИНЫ

Контроль – извлечение сока из мезги без обработки (К).

Тепловая мацерация мезги при 80–85 °С в течение 5 минут – образец 1.

Тепловая мацерация мезги при 80–85 °С в течение 5 минут, обработка ФП в течение 2 часов при 45–50 °С – образец 2:

- 2.1 – обработка ФП Фруктоцим Колор;
- 2.2 – обработка ФП Вегазим ХЦ;
- 2.3 – обработка МЭК.

Обработка ФП в течение 2 часов при 45–50 °С – образец 3:

- 3.1 – обработка ФП Фруктоцим Колор;
- 3.2 – обработка ФП Вегазим ХЦ;
- 3.3 – обработка МЭК.

Обработка ФП при температуре 22–23 °С в течение 4 часов – образец 4:

- 4.1 – обработка ФП Фруктоцим Колор;
- 4.2 – обработка ФП Вегазим ХЦ;
- 4.3 – обработка мультиэнзимной композицией (МЭК).

Ферментативную мацерацию мезги проводили комплексными препаратами с выраженной пектинэстеразной активностью – Фруктоцим Колор (ФК) (20,8 едА/г) и с преобладающей целлюлолитической и гемицеллюлазной активностью – Вегазим ХЦ (ВХЦ) (2000 едА/г) («Ersbloeh Geisenheim AG», Германия). Состав МЭК: Фруктоцим Колор + Вегазим ХЦ в соотношении 2:1 (по основной активности). Дозировка ферментов: при температуре 45–50 °С – 0,05 % от веса сырья; при температуре 22–23 °С – 0,1 % от веса сырья.

Брожение суслу проводили на мезге при температуре 23–25 °С с использованием рас дрожжей рода *Saccharomyces*: чистые культуры дрожжей (ЧКД) – Черносмородиновая 7, К-17, Москва 30; активные сухие дрожжи

(АСД) – Red Fruit (Италия), UWY SP1 (Великобритания), LW 317-29 (Oenoferm Rug, Германия).

Оценку суммарного содержания мономерных антоцианов в исследуемых образцах проводили методом рН-дифференциальной спектрофотометрии по ГОСТ 32709-2014. Для анализа использовался спектрофотометр Shimadzu 1800 с диапазоном длин волн 190–1100 нм. Профиль антоцианов определяли методом ВЭЖХ с помощью системы жидкостной хроматографии Agilent 1100, оснащенной диодно-матричным и МС-детектором Agilent 6200 TOF/LC-MS по известной методике [11].

Способность биологически активных компонентов, содержащихся в исследуемых образцах, гасить свободные радикалы оценивалась в DPPH-тесте *in vitro* [12] и методом ABTS [13].

Определение всех показателей проводили в 3-5 повторностях. Обработка экспериментальных данных осуществлялась с использованием методов математической статистики. Для расчета коэффициентов парной корреляции использовали программу Excel 2010 Microsoft Office.

Работа состояла из нескольких этапов. На первом этапе был изучен качественный и количественный состав антоцианов сока черной смородины (таблица 1). В соке черной смородины идентифицировано 11 антоцианов, большинство из которых представляет собой гликозиды дельфинидина и цианидина, что согласуется с ранее полученными данными [1, 4]. В соке черной смородины преобладали соединения дельфинидина – 51 % от суммы всех антоцианов.

Таблица 1 – Идентификация антоцианов в черносмородиновых соках по времени удерживания, максимуму поглощения, массы и соответствующих им

№№ пп	Наименование соединения (международное обозначение)	Время удерживания, Rt (±0.2)	UV/Vis max, нм (±2 нм)	m/z	Детектируемый ион
1	2	3	4	5	6
1	Дельфинидин-3-глюкозид (Dpd-3-glu)	11.3	276, 525	465.11 303.05	[M] ⁺ [M – глюкоза*] ⁺
2	Дельфинидин-3-рутинозид (Dpd-3-rut)	12.0	276, 525	611.17 465.11 303.05	[M] ⁺ [M – рамноза] ⁺ [M – рутиноза] ⁺
3	Цианидин-3-глюкозид (Cyd-3-glu)	16.2	280, 516	449.12 287.06	[M] ⁺ [M – глюкоза] ⁺
4	Цианидин-3-рутинозид (Cyd-3-rut)	17.3	280, 518	595.18 449.12 287.06	[M] ⁺ [M – рамноза] ⁺ [M – рутиноза] ⁺

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5	6
5	Петунидин-3-рутинозид (Ptd-3-rut)	18.9	280, 532	625.19 479.13 317.12	[M] ⁺ [M – рамноза] ⁺ [M – рутиноза] ⁺
6	Пеларгонидин-3-глюкозид (Pgd-3-glu)	19.7	278, 500	433.13 271.05	[M] ⁺ [M – глюкоза] ⁺
7	Дельфинидин (Dpd)	21.5	276, 530	303.05	[M] ⁺
8	Пеонидин-3-рутинозид (Pnd-3-rut)	22.1	280, 518	609.18 463.12 301.08	[M] ⁺ [M – рамноза] ⁺ [M – рутиноза] ⁺
9	Цианидин (Cyd)	26.1	280, 527	287.06	[M] ⁺
10	Цианидин-3-(кофеилглюкозид) (Cyd-3-(kof-glu))	29.4	280, 325, 515	611.15 287.06	[M] ⁺ [M – кофеилглюкоза] ⁺
11	Дельфинидин-3-(п-кумароилглюкозид) (Dpd-3-(p-kum-glu))	30.8	276, 310, 525	611.15 303.05	[M] ⁺ [M – п-кумароилглюкоза] ⁺

*Здесь: остаток моно- или дисахарида минус 18 Да (молекула воды, образующаяся в реакции гликозилирования антоцианидинов)

Результаты исследований суммарного содержания антоцианов и концентрации индивидуальных соединений в черносмородиновом соке и сусле, полученном с использованием различных способов мацерации, показали, что кратковременный нагрев мезги в процессе мацерации приводил к увеличению концентрации антоцианов почти в 2 раза по сравнению с контролем, что обусловлено термическим разрушением клеточных стенок плодовой мякоти (таблица 2). В образцах

черносмородинового сусла, полученных с использованием ферментативного катализа, концентрация антоцианов возрастала на 13,8–26,8 % в зависимости от используемого ферментного препарата.

Более высокая концентрация антоцианов была отмечена в образцах сусла 2.1, 3.2, 4.2, полученных в результате обработки мезги препаратом Фруктоцим Колор с выраженной пектинэстеразной активностью.

Таблица 2 – Изменение качественного и количественного состава антоцианов черносмородинового сока при ферментативной мацерации мезги

Наименование антоцианов	Массовая концентрация, мг/дм ³										
	К	1	2.1	2.2	2.3	3.1	3.2	3.3	4.1	4.2	4.3
Dpd-3-glu	36	62	106	87	92	154	125	137	170	116	143
Dpd-3-rut	139	321	354	315	337	517	445	477	567	476	500
Cyd-3-glu	41	48	193	143	163	280	173	215	308	175	226
Cyd-3-rut	116	274	365	318	332	585	482	533	649	507	559
Ptd-3-rut	6	8	16	15	15,5	20,5	21,5	21,1	22,5	18,6	22,1
Pgd-3-glu	1,4	2,7	3,4	2,8	3,0	4,7	7,5	7,0	5,2	4,6	7,4
Dpd	0,7	-	-	-	следы	-	1,3	1,4	следы	следы	1,5
Pnd-3-rut	2,1	5,3	7,2	6,5	6,8	9,5	7,6	8,4	10,4	7,7	8,9
Cyd	1,4	1,2	-	следы	1,5	-	2,5	0,7	-	2,1	3,0
Cyd-3-(kof-glu)	2,1	1,2	2	1,6	1,4	3,1	2,5	2,8	3,5	1,8	3,0
Dpd-3-(p-kum-glu)	1,0	0,5	1,3	1,0	1,0	1,6	1,3	1,4	1,7	1,2	1,5
Сумма	347	724	1048	890	953	1575	1269	1405	1737	1310	1475

РЕГУЛИРОВАНИЕ СОСТАВА АНТОЦИАНОВ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ ВИНА ИЗ ЧЕРНОЙ СМОРОДИНЫ

В образцах 2.2, 3.2 и 4.2, полученных с использованием мацерации мезги препаратом Вегазим ХЦ, концентрация антоцианов была ниже на 15 %, 19 % и 24 % соответственно. При этом необходимо отметить, что выход сока-самотека в этих образцах был выше в среднем на 3,5–4,5 %. Введение гемицеллюлазного ферментного препарата Вегазим ХЦ в состав МЭК также привело к снижению концентрации антоцианов в жидкой фракции (сусле) на 9–15 % (образцы 2.3, 3.3, 4.3). Полученный эффект от использования ФП Вегазим ХЦ может быть вызван наличием в этом препарате β-глюкозидазной активности, что привело к частичному разрушению глюкозидов до их нестойких агликонов.

Наибольшее извлечение антоцианов из мезги в сок наблюдалось в образце 4.1 (обработка ферментным препаратом Фруктоцим Колор при низкой температуре). Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что в наибольшей степени на накопление антоцианов в сусле оказывают влияние ферменты, разрушающие пектиновые вещества ягоды. При этом определяющими факторами являются концентрация ферментов и продолжительность воздействия. Проведение мацерации мезги при температуре 45–50 °С приводит к интенсификации окислительно-восстановительных процессов и образованию нерастворимых ком-

плексов антоцианов с азотистыми соединениями, в результате чего их суммарная концентрация в этих образцах снижалась.

Установлено, что в зависимости от применяемого способа обработки мезги изменялось соотношение отдельных антоцианов. Так, в результате обработки препаратом Фруктоцим Колор доля дельфинидинов снижалась в среднем на 8,5 %, а доля цианидинов возрастала на 8,8 %. Необходимо отметить, что в образцах суслу, полученных из ферментированной этим препаратом мезги, практически отсутствовали агликоны, что, несомненно, является положительным фактором с точки зрения сохранения цветковых характеристик и вкусового восприятия конечного продукта.

Следующий этап исследований был посвящен изучению изменений антоцианов в процессе брожения. Сбраживанию подвергали образец суслу 4.1 (обработка ФК при температуре 22–23 °С), показавший наилучшие результаты по содержанию антоцианов. Данные, представленные в таблице 3, свидетельствуют о том, что в результате брожения, в зависимости от расы использованных дрожжей, суммарное содержание антоцианов в винноматериале из черной смородины снижалось от 18,7 % (дрожжи UWY SP1) до 58,1 % (дрожжи Red Fruit).

Таблица 3 – Суммарное содержание и профиль антоцианов в винноматериалах из черной смородины, полученных с использованием различных рас винных дрожжей

Антоцианы	Доля индивидуальных антоцианов, %					
	Черносмородиновая 7	К-17	Москва 30	«Red Frut»	UWY SP1	LW 317-29
Dpd-3-glu	11,1	11,2	11,3	11,0	11,2	10,8
Dpd-3-rut	35,0	35,0	34,8	35,6	35,5	35,5
Cyd-3-glu	16,8	16,7	16,9	16,1	16,0	15,7
Cyd-3-rut	34,7	34,4	34,5	35,0	34,8	35,6
Ptd-3-rut	1,3	1,4	1,3	1,2	1,3	1,3
Pgd-3-glu	0,3	0,4	0,3	0,3	0,3	0,2
Dpd	следы	следы	следы	следы	следы	следы
Pnd-3-rut	0,6	0,6	0,6	0,5	0,6	0,6
Cyd	следы	следы	следы	следы	следы	следы
Cyd-3-(kof-glu)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Dpd-3-(p-kum-glu)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Сумма антоцианов, мг/дм ³	1080±94,0	883±88,3	1281±77,6	725±72,5	1408±98,5	893±89,3

Данный факт, вероятно, связан с адсорбцией части антоцианов дрожжевыми клетками. Можно предположить, что чем больше дрожжей накапливается в сусле в процессе брожения, тем интенсивнее анто-

цианы сорбируются дрожжевыми клетками. Сорбционные способности дрожжей также могут быть физиологической особенностью используемой расы [14].

При оценке количественного содержания

индивидуальных антоцианов в полученных виноматериалах отмечена более высокая доля цианидинов (50,8–51,5 %) по сравнению с дельфинидинами, доля которых составляла от 46,0 % до 46,7 %. В образце виноматериала, полученном с использованием расы UWY SP1 и содержащем максимальную концентрацию антоцианов, доля дельфинидинов составляла 46,7 %, а цианидинов – 50,8 %. Из отечественных дрожжей в наименьшей степени концентрация антоцианов снижалась при использовании расы Москва 30. Напротив, в образцах, полученных с использованием рас LW 317-29 и Red Fruit, концентрация антоцианов снизилась на 48,4 % и 58,1 %, соответственно.

При изучении взаимосвязи концентрации

антоцианов и антиоксидантной активности обработанных соков и виноматериалов из черной смородины были использованы 2 наиболее часто применяемых метода определения антиоксидантной активности пищевых продуктов. Считается, что использование нескольких методов позволяет получить наиболее исчерпывающие данные [15]. Анализ значений величины антиоксидантной активности, представленных в таблице 4, показал, что поглотительная способность к свободным радикалам, определенная методами DPPH и ABTS, возрастает в результате ферментативной мацерации мезги и снижается в результате брожения. Причем эти изменения зависят как от способа мацерации, так и от расы дрожжей.

Таблица 4 – Антиоксидантная активность черносмородинового сока, сусла и виноматериала, определенная с использованием разных методов

Наименование образца, раса дрожжей	Метод DPPH		Метод ABTS
	% ингибирования	ТЭ, мг/дм ³	ТЭ, ммоль/дм ³
Контроль	71,55	1850	24,5
1	74,33	1972	25,3
2.1	81,71	2138	26,8
2.2	82,42	2261	27,9
2.3	81,93	2213	27,6
3.1	88,71	2297	34,7
3.2	85,47	2204	26,5
3.3	87,13	2267	32,8
4.1	93,15	2414	40,5
4.2	93,21	2419	41,9
4.3	93,42	2421	42,3
Черносмородиновая 7	91,40	2368	41,5
К-17	88,24	2286	34,7
Москва 30	91,75	2377	32,9
«Red Frut»	88,24	2286	27,5
UWY SP1	91,83	2380	28,4
LW 317-29	84,55	2189	40,8

В результате математической обработки полученных данных установлено, что метод DPPH более чувствителен к изменению концентрации антоцианов ($R = 0,729$), чем метод ABTS ($R = 0,420$). В целом, можно сделать заключение о существовании определенной корреляции между суммарным содержанием антоцианов и антиоксидантной активностью исследуемых образцов сусла и виноматериала. Относительно невысокие коэффициенты корреляции свидетельствуют о том, что антиоксидантные свойства продукта определяются не только антоцианами, но и другими биологически активными компонентами, в том числе довольно высокой концентрацией аскорбиновой кислоты.

ВЫВОДЫ

На основании проведенных исследований установлено, что наиболее сильно на состав и соотношение антоцианов влияет ферментативная мацерация мезги. Использование ферментного препарата Фруктоцим Колор с выраженной пектинэстеразной активностью позволяет значительно повысить концентрацию антоцианов в сусле и вине. С целью сохранения в черносмородиновом виноматериале высокой концентрации антоцианов рекомендуется использовать для брожения расы Москва 30, Черносмородиновая 7 и UWY SP1.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дейнека, Л. А. ВЭЖХ в контроле антоцианового состава плодов черной смородины / Л. А. Дейнека [и др.] // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2009. – Т.9. – Вып. 4. – С. 529-536.
2. GavriloVA, V. Separation, Characterization and Quantification of Phenolic Compounds in Blueberries and Red and Black Currants by HPLC-DAD-ESI-MSⁿ / V. GavriloVA, M. Kajdžanoska, V. StefoVA, M. Gjamovski // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2011. – № 59. – P. 4009-4018.
3. Czyzowska, A. Changes to polyphenols in the production of must and wines from blackcurrants and cherries. Part II. Anthocyanins and flavanols / A. Czyzowska, E. Pogorzelski // Eur Food Technologies. – 2004. – N 218. – P. 355-359.
4. Панасюк, А. Л. Антоцианы окрашенных фруктов и ягод и приготовленных из них плодовых виноматериалов / А. Л. Панасюк [и др.] // Виноделие и виноградарство. – 2016. – № 5. – С. 15-19.
5. Wang, H. Oxygen Radical Absorbing Capacity of Anthocyanins / H. Wang, G. Cao, R.L. Prior // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 1997. – № 45. – P. 304-309.
6. Clifford, M. N. Anthocyanins – nature, occurrence and dietary burden / M.N. Clifford // Journal Science Food and Agricultural. – 2000. – Vol. 80. – № 7. – P. 1063-1072.
7. Analysis and biological activities of anthocyanins / J.M. Kong [et al] // Phytochemistry. – 2003. – Vol. 64. – № 5. – P. 923-933.
8. Hou, D. X. Potential mechanisms of cancer chemoprevention by anthocyanins / D.X. Hou // Current Molecular Medicine. – 2003. – Vol.3. – № 2. – P. 149-159.
9. Lila, M. A. Anthocyanins and human health: an in vitro investigative approach // Journal of Biomedicine and Biotechnology. – 2004. – Vol. 2004. – № 5. – P. 306-313.
10. Effect of pectinolytic juice production on the extractability and fate of bilberry and black currant anthocyanins / J.M. Koponen, J. Buchert, K. S. Poutanen, A. R. Törrönen // European Food Research and Technology. – 2008. – V. 227. – P. 485-494.
11. Перова, И. Б. Биологически активные вещества плодов калины обыкновенной /

И. Б. Перова [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2014. – Т. 48. – №5. – С. 32-39.

12. Bondent, V., Brand-Williams, W., Berset, C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH* free radical method / V. Bondent, W. Brand-Williams, C. Berset. // Journal of Food Science and Technology. – 1997. – № 30. – P. 609-615.)

13. Re, R. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay / R. Re [et al] // Free Radical Biology & Medicine. – 1999. – Vol. 26. – N 9/10. – P. 1231-1237.

14. Vilanova, M., Masneuf-Pomarede, I., Dobourdiou, D. Influence of *Saccharomyces cerevisiae* strains on general composition and sensorial properties of white wines made from *Vitis vinifera* cv. "Alb-arino" / M. Vilanova, I. Masneuf-Pomarede, D. Dobourdiou // Food Technology and Biotechnology. – 2005. – Vol. 43(1). – P. 79-83.

15. Vilaño, D., Fernández-Pachón, M.S., Troncoso, A.M., Garcí-Parrilla Influence of enological practices on the antioxidant activity of wines / D. Vilaño [et al] // Food Chemistry. – 2006. – Vol. 95. – no. 3. – P. 394-404.

Макаров Сергей Сергеевич, аспирант кафедры «Виноделие и неорганическая аналитическая химия» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет технологий и управления имени К.Г. Разумовского (ПКУ)», e-mail: mak1274@gmail.com.

Макаров Сергей Юрьевич, кандидат техн. наук, доцент кафедры «Виноделие и неорганическая аналитическая химия» Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет технологий и управления имени К.Г. Разумовского (ПКУ)», e-mail: mak210@yandex.ru.

Панасюк Александр Львович, доктор техн. наук, профессор, заместитель директора по научной работе ВНИИПБуВП – филиала ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, e-mail: ktbp@mgutn.ru.