



**М.Бежуашвили**, д. т. н., н. с. отдела биохимии вина,  
**Д.Окруашвили**, начальник группы инструментального анализа,  
**Л.Шубладзе**, зав. лаборатории физико-химического анализа  
 Институт виноградарства и виноделия Аграрного университета Грузии

## СТИЛЬБЕНОИД ЦИС-ПИЦЕИД В ВИНОГРАДЕ КРАСНОЯГОДНЫХ СОРТОВ, РАСПРОСТРАНЕННЫХ В ГРУЗИИ

**Введение.** Фенольные вещества винограда являются важными компонентами для приготовления высококачественных красных вин. Разные представители этого широкого класса соединений активно участвуют в многочисленных окислительно-восстановительных превращениях и обуславливают формирование вин [1]. Вместе с тем фенольные вещества характеризуются высокой антиоксидантной активностью, что в значительной степени определяет лечебно-профилактическую ценность красных вин [2, 3]. Основные фенольные вещества, содержащиеся в винограде и винах из красных сортов винограда представлены в виде флаванолов, процианидинов, антоцианов, флавонолов, стильбеноидов, фенолкарбоновых кислот и др. Среди них значительной биологической активностью обладают стильбеноиды. В краснойягодных сортах винограда и приготовленных из них винах стильбеноиды содержатся в виде мономерных цис-, транс-ресвератрола и их производных:  $\epsilon$ -  $\alpha$ - и  $\delta$ - виниферина, паллидола, астрингина, пицеида, тетрамерных стильбенов и др. [4, 5].

Стильбеноиды представляют собой биологически активные вещества различных направлений, что отражается в антиоксидантной, антивирусной, антибактериальной и др. активностях. Стильбеноиды обуславливают лечебно-профилактическое воздействие в лечении сердечно-сосудистых, онкологических и ряде других заболеваний [6].

Исследование стильбеноидов нами было начато с выделения и идентификации транс-ресвератрола,  $\epsilon$ -виниферина и двух тетрамерных стильбенов из однолетних побегов виноградной лозы [7, 8]. В кожце винограда краснойягодных сортов, распространённых в Грузии, нами определены стильбеноиды: транс-ресвератрол,  $\epsilon$ -виниферин и тетрамерный стильбен. Среди них доминантом оказался транс-ресвератрол. Согласно нашим результатам, стильбеноиды биологическую активность выявляют при алкогольном и яблочно-молочнокислом брожении. В частности, транс-ресвератрол оказывает стимулирующее воздействие на рост и развитие винных дрожжей в процессе алкогольного брожения [9]. Природная концентрация транс-ресвератрола и  $\epsilon$ -виниферина в сухом вино материале Саперави стимулирует превращение яблочной в молочную кислоту с образованием сравнительно малого количества побочных продуктов [10].

Из виноградного сока сорта Саперави нами выделены и идентифицированы стильбеноидные глюкозиды: транс-пицеид (полидиглюкозид) и глюкозид

В виноградном соке и кожце винограда краснойягодных сортов, распространённых в Грузии, идентифицирован и определён стильбеноид цис-пицеид. В эксперименте использованы сорта винограда Саперави, Каберне совиньон, Оцханури сапере, Александроули, Муджуретули, Шавкапито, Тавквери, Аладастури, Дзелшави, Оджалешви. Идентификация препаративно выделенного вещества проведена на основе его кислотного гидролиза, тонкослойной и высокоэффективной жидкостной хроматографии, УФ-спектроскопии. Оказалось, что цис-пицеид в кожце винограда содержится в большем количестве (1,63–14,21 мг/кг), чем в виноградном соке (0,95–5,75 мг/л). Данные цис-пицеида, представляются важными, для установления стильбеноидного профиля и определения биологической активности винограда и вин краснойягодных сортов.

**Ключевые слова:** цис-пицеид, виноградный сок, кожца винограда.

$\epsilon$ -виниферина [11]. Продолжая исследование стильбеноидов, мы изучили стильбеноид цис-пицеид в соке и кожце винограда краснойягодных сортов, распространённых в Грузии.

**Объекты и методы исследования.** Объектами исследования служили виноградный сок и кожца винограда краснойягодных сортов, распространённых в Грузии: Саперави, Каберне совиньон, Оцханури сапере, Александроули, Муджуретули, Шавкапито, Тавквери, Аладастури, Дзелшави, Оджалешви. Объекты отбирали в период технической зрелости (урожая 2012 г.). Образцы приготовили по схеме, представленной на рис.1. Качественный анализ стильбеноидов проводили методом тонкослойной хроматографии на пластинках «Силуфол» в системе растворителей - хлороформ:метанол (80:20), хроматограммы проявляли диазотированной сульфаниловой кислотой. Исследуемое вещество из суммарного препарата стильбеноидов выделяли препаративно и его кислотный гидролиз проводили раствором 10%-ной соляной кислоты при  $t$  80°C в течение 3 ч [12]. Ультрафиолетовый спектр снимали на спектрометре «Спекорд», цис-пицеид количественно определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на хроматографе «Varian» в следующих условиях: колонка Supelcosil™ LC18, 250X4,6мм элюент А: 0,025% трифторукс-

ная кислота; элюент В: ацетонитрил (ACN)/A, 80/20. Режим градиента 0\_35 wT 20\_50%B; B35\_40wT 50\_100%B; 41-46wT 100%B; 46-48wT 100-20%B; 48-53wT 20%B. Скорость подачи элюента 1мл/мин, длина волны 285 нм и 306 нм [5]. Для хроматографирования образцы предварительно отфильтровали на мембранном фильтре (0,45 $\mu$ m).

**Результаты и обсуждение.** В этилацетатных фракциях виноградного сока разных сортов тонкослойной хроматографией зафиксирован ряд соединений. Среди них исследуемому веществу (III) соответствует  $R_f$ -0,26. При проявлении диазотированной сульфаниловой кислотой вещество дает желтоокрашенное пятно (рис.2). Выделенное в индивидуальном виде и растворенное в метаноле исследуемое вещество ха-

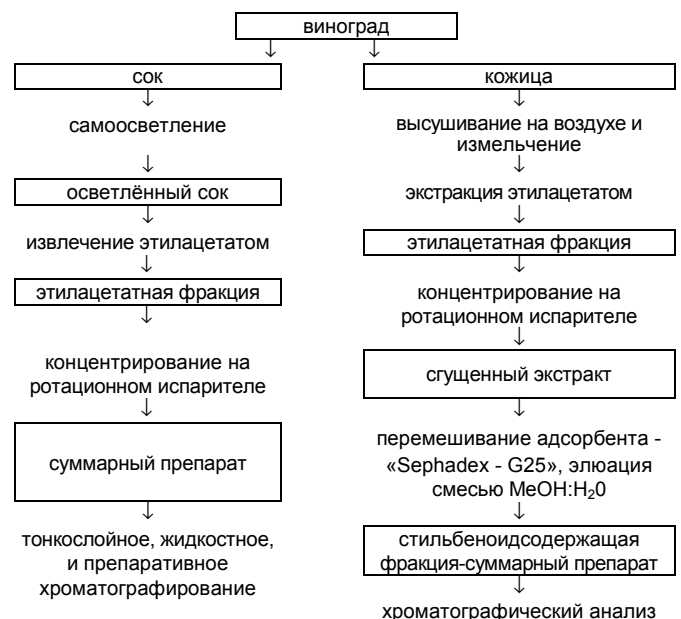


Рис.1. Схема выделения стильбеноидсодержащих фракций из виноградного сока и кожцы винограда

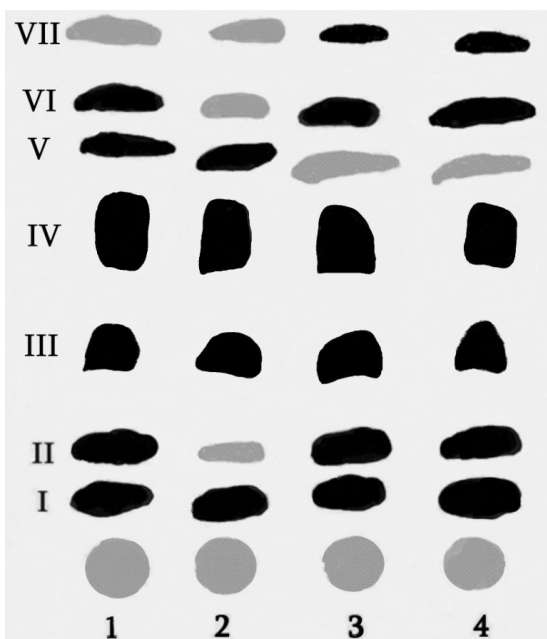


Рис.2. Тонкослойная хроматограмма этилацетатных фракций виноградного сока с (система-хлороформ: метанол 80:20): 1 - Александрюли, 2 - Аладастури, 3 - Муджуретули, 4 - Дзелшави, III-исследуемое вещество.

рактируется максимальным поглощением при длине волны 285 нм. В гидролизате зафиксированы глюкоза и агликон, который по  $R_f = 0,65$ , окрашиванию пятна и УФ спектром ( $\lambda_{\text{max}}(\text{MeOH})$  285нм) идентифицируется как цис-ресвератрол. Следует отметить, что образующееся при кислотном гидролизе вещество (III) в жестких условиях (кипение реакционной среды) не проявляется диазотированной сульфаниловой кислотой (из-за превращения фенольных гидроксильных групп), но при ультрафиолетовом облучении даёт голубоватое окрашивание. Это вещество характеризуется максимальным поглощением при длине волны 278 нм, что характерно для стильбенов. Образование цис-ресвератрола и глюкозы в результате кислотного гидролиза исследуемого вещества указывает на наличие стильбеноидного гликозида. Полученные данные, в частности характерная область максимального поглощения (285 нм) и другие, совпадают с литературными данными по идентификации цис-пiceiда [13].

Для количественного определения цис-пiceiда методом ВЭЖХ в виноградном соке и кожице винограда краснойгоды сортов, проводили его сравнительное хроматографирование при длине волн 285 нм и 306 нм. Следует отметить, что хроматографированием при 306 нм вместо транс-пiceiда и других транс-стильбенов выходит и четко выраженный пик цис-пiceiда.

Хроматографированием при 285 нм площадь полного пика цис-пiceiда 1,6-раза выше, чем площадь того же пика при 306 нм. Содержание цис-пiceiда в виноградном соке и кожице винограда разных сортов приведены в таблице.

Содержание цис-пiceiда в виноградном соке и кожице винограда различное. Его концентрация в кожице значительно преобладает над таковой в виноградном соке. Краснойгоды сорта различаются по содержанию цис-пiceiда. С этой точки зрения богатыми оказались кожица винограда сортов Саперави, Аладастури, Оджалеш и Оцханури сапере. Среди образцов виноградных соков по содержанию цис-пiceiда доминантными выявлены Саперави, Аладастури и Оцханури сапере. В виноградном соке краснойгоды сортов цис-пiceiда колеблется в интервале 0,95-5,75мг/л, а в кожице - с 1,63-14,21 мг/кг.

Таким образом, в результате проведенного исследования в соке и кожице винограда краснойгоды сортов, распространенных в Грузии, впервые идентифицирован и определен гликозид цис-ресвератрола - цис-пiceiд. Обнаружение в винограде биологически активного стильбеноидного гликозида является научной основой для установления стильбеноидного профиля краснойгоды сортов винограда и приготовленных из них вин, а также для обоснования их лечебно-профилактической ценности.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бежуашвили М.Г., Шония Т.М. Влияние винных дрожжей на превращение некоторых флавонолов винограда при алкогольном брожении. Виноделие и Виноградарство. 2008, №5. - С.22-25.
2. Бежуашвили М.Г., Месхи М.Ю., Бостоганашвили М.В., Малания М.А. -Антиоксидантная активность виноматериалов для вин кахетинского типа и ее зависимость от фенольных соединений. Виноделие и Виноградарство. 2005, №6. - С. 28-29.
3. Szmítko P. E., Verma S. Antiatherogenic potential of red wine: clinican update. Am. Journal Physiol Heart Circ. Physiol. 2005, 288, pp. 2023-2030.
4. Bezhuashvili M., Vepkshvili N., Kobaidze T., Shubladze L., Okruashvili D. Content of the Biologically Active Trans-Resveratrol and e-Viniferin in Color Vine Varieties Growing in Georgia. //Bulletin of The Georgian National Academy of Sciences. 2011, v0L5. №2, pp.61-64.
5. Guebailia H., Chilra K., Richard T., Mabrouk T.,

Таблица  
Содержание цис-пiceiда в образцах винограда краснойгоды сортов

№	Сорт винограда	Сок, мг/л	Кожица, мг/кг
1	Саперави	5,75	14,21
2	Каберне-Совиньон	2,52	5,32
3	Оцханури сапере	3,15	8,76
4	Александрюли	2,27	4,25
5	Муджуретули	2,11	2,97
6	Шавкапито	1,07	2,53
7	Тавквери	0,95	1,63
8	Аладастури	3,57	12,20
9	Дзелшави	1,72	2,77
10	Оджалеш	2,82	10,55

Furiga A., Vitrac X., Monthi Jean-Pierre, delaunay Yean-Claude, Merillon Yean-Michael. Hopeaphenol: The first resveratrol Tetramer in Wines from North Africa. J. Agric. Food Chem. 2006, 54, pp. 9559-9564.

6. Klatsky A. L., Armstrong M. A., Friedman G. D. Red wine, white wine, liquor, beer and risk for coronary artery disease hospitalization. American Journal of Cardiology. 1997, 80, pp. 416-420.

7. Бежуашвили М. Г., Муджири Л. А., Куркин В. А., Запесочная Г. Г. Резвератрол из виноградной лозы. Химия древесины. 1991, №6. -С.75-78.

8. Бежуашвили М. Г., Муджири Л. А., Шашков А. С., Чингов О. С., Стомахин А. А. Стильбеновые тетрамеры из однолетних побегов виноградной лозы. Биоорганическая химия. 1997, т. 23, №12, с. 279-987.

9. Bezhuashvili M., Kobaidze T., Kokhtashvili M., Meskhi M., Sturua Z.

Some Biological Activities of Vine Stilbens and New Georgian Grape Products with a Functional

Designation. 33 world congress of Vine and Wine. Tbilisi. 2010, yun 20-25.

10. Bezhuashvili M., Vepkshvili N., Okruashvili D. Influence of phenolic compounds over the malolactic fermentation in red wines. Биомногообразие и биотехнологии. Конференция Грузинского Аграрного Университета. 2011, 5-6 декабря.

11. Bezhuashvili M.G., Elanidze L.D., Okruashvili D.Sh. Identification of zome Stilbenoid Glucosides from Saperavi Grape Juice (Vitis vinifera L.). Georgian Engineering News. 2013, №1, pp.158-164.

12. Иванова С. З., Федорова Т. Е., Федоров С. В., Бабкин В. А. Стильбены коры ливтенницы гмелина. Химия растительного сырья. 2008, №4. - С. 83-88.

13. Baoshan Sun, Ribes A. M., Conceic M., ao Leandro, Belchior A. P., Spranger M. I.

Stilbenes: Quantitative extraction from grape skins, contribution of grape solids to wine and variation during wine maturation. Analytica Chimica Acta. 2006, 563, pps.382-390.

Поступила 11.09.2013

© М.Бежуашвили, 2013

© Д.Окруашвили, 2013

© Л.Шубладзе, 2013