

МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАНА
ТАШКЕНТСКИЙ ХИМИКО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

УДК: 575.23:.85:. 662 *На правах рукописи*

ВОХИДОВА НИЛУФАР БАХТИЁРОВНА
ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССОВ ВЫДЕЛЕНИЯ АНТИОКСИДАНТОВ
ВИНОГРАДА

Специальность 5А320501-Биотехнология (производство, пищевых,
кормовых, химических продуктов и биопрепаратов для сельского
хозяйства)

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание академической степени магистра

Научный руководитель:
к.б.н., доц. Артикова Р.М.

Ташкент 2017

СОДЕРЖАНИЕ

№	с
	р
ВВЕДЕНИЕ	3
Гл: ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
ва	
1.1 Растительные антиоксиданты	7
1.2 Классификация и краткая характеристика основных типов флавоноидов	1
1.3 Биологическая активность флавоноидов	2
1.4 Характеристика авторичного виноградногосырья и его использование в промышленности	3
Гл: МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	4
ва	
2.1 Материалы исследований	4
2.2 Методы исследований	4
2.3 Определение содержания клетчатки	4
2.4 Определение витамина С	4
2.5 Определение содержания флавоноидов	4
2.6 Определение массовой концентрации фенольных веществ в экстрактах	4
Гл: РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	4
ва	
Ш	
3.1 Обоснование выбора исходного сырья для получения экстракта из виноградных выжимок и косточек винограда	4
3.2 Исследование режимов и параметров экстракции суммарных полифенолов винограда из выжимки и виноградных семян	4
3.3 Исследование эффективности извлечения флавоноидов винограда различными экстрагентами	5
3.4 Исследование влияния продолжительности экстракции на эффективность извлечения флавоноидов	5
3.5 Исследование влияния температуры экстракции на эффективность извлечения флавоноидов	5
3.6 Технологическая схема получения флавоноидов	5
V ВЫВОДЫ	5
VI СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	5
VI ПРИЛОЖЕНИЕ	6

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. В настоящее время большое внимание уделяется исследованию антиоксидантных свойств лекарственного растительного сырья и препаратов на их основе. Одной из изученных групп растительных антиоксидантов являются полифенольные соединения. Наиболее исследованы антиоксидантные свойства флавоноидов, которыми объясняется широкий спектр биологического действия. В связи с перспективами использования данного класса соединений, наблюдается значительный интерес к исследованию их биологических свойств [Анцышкина, А. М. 1990, Каверина, Н. В. 1988, Корулькин, Д. Ю. 2007, Куркин, В. А. 2008].

Доказано, что флавоноиды являются «ловушками» свободных радикалов и предотвращают перекисное окисление липидов. Также флавоноиды способны активировать природные механизмы клеточной защиты от окислительного стресса через экспрессию внутриклеточных ферментов.

Исследованы взаимосвязи антиоксидантных свойств и строения флавоноидных структур.

Экспериментальные данные свидетельствуют о корреляции между антиоксидантным действием и количеством фенольных гидроксильных групп в молекулах. На основании многочисленных экспериментальных исследований установлено антиоксидантное действие более 50 выделенных флавоноидов [Корулькин, Д. Ю. 2007, Рогинский, В. А. 1988, Тараховский, Ю. С. 2013]. Однако, низкая биодоступность большинства флавоноидных соединений затрудняет их использование в чистом виде [Тараховский, Ю. С. 2013, Wang, X. A 2009].

Биологически активные свойства винограда и вина получили широкое общественное признание, однако системные данные о природе биологической активности винограда и вина, химическом составе веществ,

которые определяют их целебное действие, экспериментальные и клинические результаты применения вина и функциональных продуктов питания из винограда стали формироваться лишь в последнее десятилетие.

На сегодняшний день получение биологически активных пищевых концентратов и препаратов суммарных полифенолов винограда стало приоритетным во всем Мире. В этом направлении уже разработаны и внедрены в производство технологии получения пищевых концентратов полифенолов винограда «Эноант» и «Полифен» – нутрисевтиков, которые имеют высокую антиоксидантную активность.

Исследования по биологической активности белых и красных вин показали, что виноградные вина обладают высокой стресс-протекторной, антиатерогенной и гепатопротекторной активностями, обусловленными наличием в них суммарных полифенолов винограда – мощных антиоксидантов растительного происхождения.

Основным источником антиоксидантов, определяющих биологическую ценность продукции, получаемой из винограда, является виноградная выжимка, образующаяся преимущественно при виноделии «по-белому».

На сегодняшний день винодельческая промышленность не занимается промышленной переработкой отходов виноградарства и виноделия, подавляющее количество цехов утилизации отходов сегодня простаивает. Действующие ранее технологии переработки отходов виноградарства и виноделия не удовлетворяют условиям хранения в них биологически активных компонентов и не отвечают условиям экологической безопасности. Виноградное масло не производят в связи с убыточностью энергоемких процессов сушки виноградной выжимки в сезоне виноделия и нерентабельности производства технического масла прессовым способом, при котором выход целевого продукта не превышает 10%, тогда как в среднем содержание масла в семенах может достигать 20%. По ориентировочным оценкам 10 тыс. тонн виноградной выжимки содержат в

себе до 500 тонн полифенолов винограда. С учетом хорошей растворимости полифенолов винограда в спиртовых растворах, из выжимки можно получить экстракты полифенолов винограда и использовать их для обогащения полифенолами разбавленных или некондиционных виноматериалов при получении слабоалкогольных напитков с высокой антиоксидантной активностью. Виноградные семена кроме полифенолов, содержат в себе биологически активный продукт – виноградное масло. Из каждой тонны винограда в среднем можно извлечь 4 л виноградного масла, т.е. завод мощностью 10 000 тонн может получать до 40 тонн масла.

Минимальная цена 1 грамма полифенолов в продукте – 2 \$ США. Таким образом, только выработка полифенольных концентратов, виноградного масла, пищевых продуктов на их основе, которые имеют высокую биологическую активность, из всего 500 тонн виноградной выжимки, позволит получить продукции не менее чем на 1 млн. \$ США за год, что в несколько раз превышает стоимость винодельной продукции в отпускных ценах, которая ежегодно производится предприятиями отрасли.

В связи с этим проведение глубоких физико-химических исследований, направленных на систематизацию знаний о биологически активных веществах основных технических сортов винограда, отходов виноделия и вина, а также создание на этой научной основе технологии производства инновационных продуктов с высокой биологической активностью для оздоровления населения, является актуальным

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы являлась изучение процессов выделения антиоксидантов винограда

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

– сравнительное изучение биохимического состава разных сортов винограда

- исследовать качественный состав и количественное содержание полифенолов и антиоксидантную активность разных сортов винограда;
- разработать режимы и параметры процесса экстракции фенольных соединений из выжимки и семян винограда;

Научная новизна полученных результатов заключается в развитии технологии переработки виноградной выжимки с целью получения продуктов с высокой антиоксидантной активностью из местных сортов винограда.

Практическая значимость полученных результатов заключается в разработке технологий производства биодобавок с высокой антиоксидантной активностью.

Публикации. По материалам магистерской диссертации опубликовано 2 работ, тезисов международных научных конференциях.

Объем и структура диссертации. Магистерская диссертация изложена на 65 страницах машинописного текста, состоит из введения, четырех разделов, выводов. Список использованных источников включает 58 наименования, из них 20 – иностранных. Работа содержит 8 таблиц, 20 рисунков.

I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Растительные антиоксиданты

Антиоксиданты — вещества, замедляющие или предотвращающие окисление органических соединений. Они защищают организм от негативных воздействий свободных радикалов. Антиоксидант соединяется со свободным радикалом и ставит заслон разрушительному действию лишнего электрона. С помощью ферментной защитной системы организм преобразует клеточный оксидант в воду и кислород (нерадикал) .

В организме имеется собственная система борьбы с излишним количеством свободных радикалов, но она ослабляется под воздействием загрязненной среды, курения, прямых солнечных лучей и нуждается в поддержке. Было обнаружено, что многие растения содержат вещества флавоноиды – большую группу соединений с полифенольной структурой, которые связывают свободные радикалы, т.е. являются антиоксидантами.

В организме постоянно образуются свободные радикалы, поэтому от них должна существовать антиоксидантная защита, являющаяся одним из важнейших компонентов иммунитета в целом. Важно дополнять свой пищевой рацион природными веществами – антиоксидантами , которые усиливают защиту от свободных радикалов, повышают тем самым иммунитет, устойчивость организма к воздействию неблагоприятных внешних факторов, замедляют процессы старения.

Когда антиоксидант отдает свой электрон окислителю и прерывает его разрушительное шествие, он сам окисляется и становится неактивным. Для того чтобы его вернуть в рабочее состояние, его надо снова восстановить. Поэтому антиоксиданты, как опытные оперативники, обычно работают парами или группами, в которых они могут поддержать окисленного

товарища и быстро восстановить его. Например, витамин С восстанавливает витамин Е, а глутатион восстанавливает витамин С [Авидзба А.М. 2007] .

Антиоксидантными свойствами в организме обладают многие соединения. Это токоферолы, каротиноиды, аскорбиновая кислота, антиокислительные ферменты, женские половые гормоны, коэнзим Q, тиоловые соединения (содержащие серу), некоторые аминокислоты и белковые комплексы, витамин К и многие другие.

Сейчас мало кто сомневается в том, что кожу надо защищать от свободных радикалов. Поэтому антиоксиданты стали одними из самых популярных ингредиентов в косметике.[Большанов, Г.Б. 2003] Но не каждый крем с антиоксидантами способен защитить нашу кожу. Составление хорошего антиоксидантного коктейля - дело тонкое, важно составить такую смесь, в которой разные антиоксиданты будут восстанавливать друг друга.

В живой клетке они совершают сложные акробатические трюки, встречаясь на границе мембраны и цитоплазмы. Кроме того, аскорбиновую кислоту очень трудно вводить в косметические композиции, так как она легко разрушается.[Владимиров Ю.А. 1991] В настоящее время используют производные аскорбиновой кислоты, которые более стабильны. Например, аскорбилпальмитат -- жирорастворим, стабилен, удобен для включения в рецептуру в процессе приготовления препарата.

Аскорбиновая кислота, которая так быстро разрушается в косметических кремах, месяцами сохраняется в овощах и фруктах. То же самое касается других антиоксидантов, таких, как бета-каротин или витамин Е. Это означает, что антиоксидантные коктейли растений составлены лучше, чем все искусственные смеси антиоксидантов.

И действительно, набор антиоксидантных веществ в растениях гораздо богаче, чем в тканях животных и человека. Помимо витаминов С и Е, в растениях содержатся каротиноиды и флавоноиды (полифенолы). Слово «полифенол» используется в качестве общего родового названия для

веществ, имеющих не менее двух соседних гидроксильных групп в бензольном кольце. Благодаря такому строению полифенолы способны служить ловушкой для свободных радикалов.

Несколько лет назад было показано, что регулярное потребление зеленого чая значительно снижает риск возникновения злокачественных опухолей. Ученые, которые сделали это открытие, были так потрясены им, что с тех пор стали выпивать по несколько чашек зеленого чая в день. Неудивительно, что экстракт зеленого чая стал одним из самых популярных растительных антиоксидантов в косметике. Наиболее выраженным антиоксидантным действием обладают очищенные полифенолы зеленого чая. Они защищают кожу от вредных последствий УФ-излучения, обладают радиопротекторным действием, снимают раздражение кожи, вызванное действием вредных химикалий. Например, известно, что прекрасная Франция, [Либберт Э. В. 1976] ежедневно поглощающая невероятные количества вина, имеет весьма благоприятную статистику по сердечно-сосудистым и онкологическим заболеваниям. Было время, когда ученые объясняли «французский парадокс» благотворным влиянием малых доз алкоголя. Потом обнаружилось, что рубиновый цвет благородных красных вин объясняется высоким содержанием в них флавоноидов - самых сильных природных антиоксидантов.

Кроме флавоноидов, которые можно найти и в других растениях, в красном винограде содержится уникальное соединение ресвератрол, [Корулькин 2007] который является мощным антиоксидантом, предотвращает развитие некоторых опухолей, атеросклероза, замедляет старение кожи. Некоторые ученые, проникшись верой в целебные свойства вина, рекомендуют выпивать до 200-400 мл красного вина в день. [Либберт Э. В. 1976]

Правда, прежде чем следовать этой рекомендации, следует учесть, что в данном случае имеется в виду очень качественное вино, полученное

ферментацией чистого виноградного сока, а не суррогаты.[Макарова М.Н., 2003]

Витамин Е, который остается самым главным антиоксидантом, также можно вводить в косметику не в чистом виде, а в составе растительных масел. Много витамина Е найдено в маслах: соевом, кукурузном, авокадо, бурачника, винограда, лесного ореха, манго, зародышей пшеницы, рисовых отрубей.

Несмотря на такую мощную антиоксидантную защиту, свободные радикалы все же оказывают достаточно разрушительное действие на биологические ткани, и в частности на кожу. Причиной этого являются факторы, которые резко усиливают продукцию свободных радикалов в организме, что приводит к перегрузке антиоксидантной системы к окислительному стрессу. Наиболее серьезным из этих факторов считается УФ-излучение, однако избыток свободных радикалов может появиться в коже и вследствие воспалительных процессов, при воздействии некоторых токсинов или при разрушении клеток.[www.antioxidant-of-food.bessmertie.ru]

Важнейшими антиоксидантами являются: витамины С, Е, β-каротин, селен, биофлавоноиды (витаминоподобные вещества, содержащиеся в кожуре растений – винограда, апельсины, лимоны, томаты и прочее). [Блажей А. 1997]

Многие растительные экстракты, витамины, аминокислоты, минералы, микроэлементы обладают антиоксидантными свойствами или непосредственно, или опосредованно, так как входят в состав ферментов-антиоксидантов.

В растениях было обнаружено около 5000 флавоноидов – антиоксидантов с широким спектром целебного воздействия. Они обладают сосудорасширяющими, противоопухолевыми, противовоспалительными, бактерицидными, иммуностимулирующими и противоаллергическими свойствами[Блажей А.С., 1997].

Антиоксиданты, обнаруженные в растениях, являются полифенолами. Многие травяные добавки — сибирский женьшень (адаптоген), гинкго билоба (стимулятор умственной деятельности), чертополох морской (защищает печень), куркума длинная (противовоспалительное действие) и черника (зрение, ревматоидный артрит) — помимо своих основных свойств, являются еще и антиоксидантами. [Большанов, Г.Б. 2003]

В травяных экстрактах биоактивные ингредиенты освобождены от клеточных стенок – за счет этого они легче усваиваются организмом. Чтобы добавка давала максимальный эффект, она должна содержать строго стандартизированное количество биоактивных веществ: сибирский женьшень — 0,5% элеутерозида Е, гинкго билоба — 24% флавоглюкозидов, морской чертополох – 80% силимарина, куркума длинная — как минимум 80% куркуминоидов, черника — 25% антоцианидинов. Необходимо выбирать только такие травяные добавки, в которых точно соблюдены все эти показатели [Сирота Т.В. 1999].

Характеристика антиоксидантов. Бета-каротин. Каротиноидный предшественник витамина А. Связывает атомарный кислород и пероксильные радикалы. Защищает уязвимую (липидную) оболочку клетки. Содержится в апельсинах, желтых овощах, тыкве, моркови, в сладком картофеле и темно-зеленых овощах, например, в брокколи.

Витамин Е (d-альфа токоферол). Главный жирорастворимый антиоксидант. Защищает жирные кислоты внутри и вокруг клеток от свободных радикалов и липидного окисления. Содержится в растительном масле, приготовленном методом холодного прессования; в пшеничных ростках, хлебе и крупах из цельного зерна.

Экстракт зеленого чая. Полифеноловый антиоксидант, богатый катехинами, связывает анионные радикалы, супероксиды, перекись водорода. Экстракт должен содержать как минимум 50 процентов катехинов и полифенолов. Рекомендуемая доза — 300-700 мг в день.

Экстракт чертополоха морского. Главный защитник печени. Экстракт должен содержать 70 или больше процентов силимарина. Рекомендуемая доза — 300-600 мг в день.

Экстракт гингко билоба. Защищает клеточные мембраны от липидного окисления, особенно миелиновую оболочку нервов и клеток мозга. Экстракт, полученный из листьев дерева гингко билоба, содержит 24 процента флавогликозидов. Рекомендуемая доза — 120мг в день.

Экстракт виноградных косточек. Мощный антиоксидант, содержащий 95% процианидов (полифеноловые олигомеры), которые обладают свойством связывать свободные радикалы и подавлять активность коантиновой оксидазы, фермента, включающего цепное производство кислородных радикалов. Экстрагируется из косточек красного винограда. Рекомендуемая доза 50-100 мг в день.

Экстракт китайского лимонника. Растение с ярко выраженной способностью защищать печень и обладающее антиоксидантным свойством. Рекомендуемая доза — 200-300 мг в день.

Ликопен. Мощный каротиноид, связывающий атомарный кислород и пероксильные радикалы. Защищает липидную оболочку клетки. Содержится в помидорах. Рекомендуемая доза — 5-10 мг в день.

Альфа-липоидная кислота. Липоикная кислота не является витамином, но она существенна для жизнедеятельности организма. Она защищает клетки и преобразует окисленный глутатион в его более функциональную форму. Рекомендуемая доза — 50-100 мг в день.

Селен. Основной минеральный антиоксидант и дезактиватор свободных радикалов. Участвует в синтезе фермента глутатионной пероксидазы. Рекомендуемая доза — 200-400 мг в день (I-селенометионинная форма)

[www.ximuk.ru/ Антоц. – хим.Энци.].

Любой организм можно рассматривать как образец работы сбалансированной и отлаженной антиоксидантной системы, состоящей из

многих компонентов - это и витамины (витамины С, Е, Р), и ферменты (глутатионпероксидаза, супероксиддисмутаза), и микроэлементы (селен, цинк), и полифенольные соединения (флавоноиды), и серосодержащие аминокислоты (цистеин, метионин), а также трипептид глутатион. Это только некоторые соединения, обладающие антиокислительным действием. Химическая природа этих соединений разнообразна, среди них есть как водорастворимые и жирорастворимые компоненты. Основным принципом, на котором строится действие антиоксидантной системы живого организма - это синергизм. Он заключается в том, что компоненты системы работают сообща, восстанавливая друг друга и усиливая эффективность действия [Казаков А.Л., 2000].

Природные антиоксидантные системы, выработанные в ходе эволюции, прошли испытание "на прочность" в течение многих миллионов лет. Поэтому выглядит вполне логичным учесть опыт природы и использовать в косметических средствах естественные антиоксидантные комплексы, выделенные, например, из растений. Причин тому несколько:

1. Широкий выбор растений, обладающих не только антиоксидантным действием, но и другими полезными для кожи свойствами. Поэтому из растительного сырья можно готовить полифункциональные препараты;

2. При использовании растений нет риска инфекционного заражения, как в случае использования животного сырья;

3. Доступность растительного сырья [Блахей А.С., 1997].

И воздействие радиоактивных веществ, и хронические болезни, и стресс, и пресловутое старение (т. е. целая масса болезненных состояний человека) способны проходить в организме с формированием свободных радикалов – продуктов недостаточного восстановления кислорода, переизбыток которого ведет к окислению основы клеточной мембраны, липидов. Как итог данного процесса – нарушение их функциональности и преждевременное наступление старости.

Однако в организме человека присутствует система защиты антиоксидантной, поделенной на первичную и вторичную. Первая происходит на базе антиоксидантов-ферментов, вторая – антиоксидантов-витаминов. Подобная защита действует, начиная с рождения, но со временем ослабевает, поэтому нуждается в постоянной подпитке и поддержке.

[Абдулин, Е.Н. 2001]

Роль антиоксидантов-ферментов заключается в первичной защите: они устраняют активные формы кислорода, обрывая их действие, и превращают в радикалы менее агрессивной формы и в перекись водорода. Далее, по ходу процесса, они способны преобразовывать их в полезный кислород.

[Барабой В. А. 1976]

Роль антиоксидантов-витаминов состоит в обеспечении вторичной защиты: они гасят (подавляют) агрессивные радикалы, способные отнимать переизбыток энергии, и замедляют возникновение цепной реакции в формировании новых радикалов. Эти антиоксиданты наиболее эффективны в групповом воздействии, а не в одиночном.[Барабой В. А. 1976]

1.2.Классификацияикраткая характеристикаосновных типов флавоноидов

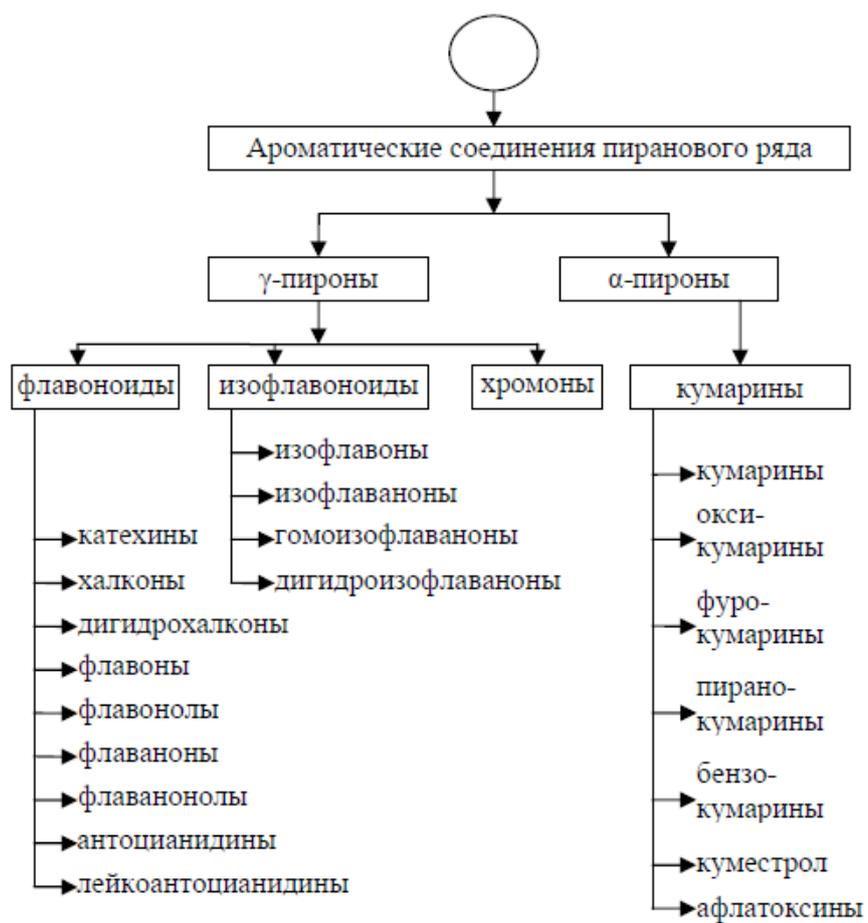
Понятие«растительныефенолы»объединяетгруппуорганических соединений,неоднородных по химическомустроению.Существуетмножество классификацийрастительныхфенолов:поисточнику,физиологической активностиидругие,нонаиболееточнойявляетсяклассификацияпо химическомустроению,согласнокоторойвсерастительныефенолыделятна следующие группы: I фенолы – содержат только гидроксильную функцию; II- фенолокислоты–содержатгидроксильнуюикарбоксильнуюфункции;III ароматическиесоединенияпирановогоряда– α -и γ -пироны; IVхиноны бензольного,нафталиновогоиантраценовогоряда.[АверьяноваЕ.В.2010]

Схема классификации растительных фенолов по химическому строению представлена на рисунке 1.1.

Наиболее многочисленным классом природных фенольных соединений являются

флавоноиды. Под термином флавоноиды объединены различные генетически связанные между собой соединения общей формулы углеродного скелета C₆-C₃-C₆ их производные. Своё название флавоноиды получили от латинского *flavus* - желтый, хотя не все они окрашены в желтый цвет.

К настоящему времени установлена структура и описаны физико-химические характеристики более 7500 природных флавоноидов. Наиболее богаты флавоноидами (от 1 до 30%) растения семейств: сложноцветные (астровые), бобовые, зонтичные (сельдерейные), губоцветные (яснотковые), розоцветные, гречишные, рутовые, березовые и др. Локализуясь главным образом в цветках, листьях, плодах, в меньшем количестве - в стеблях и корнях, флавоноиды достигают максимума содержания в фазе бутонизации и цветения. Значительно реже флавоноиды встречаются в микроорганизмах и тканях насекомых. [Lokvam 2004; Eleganus A.A. 2003; Huang I.-L., 2003]



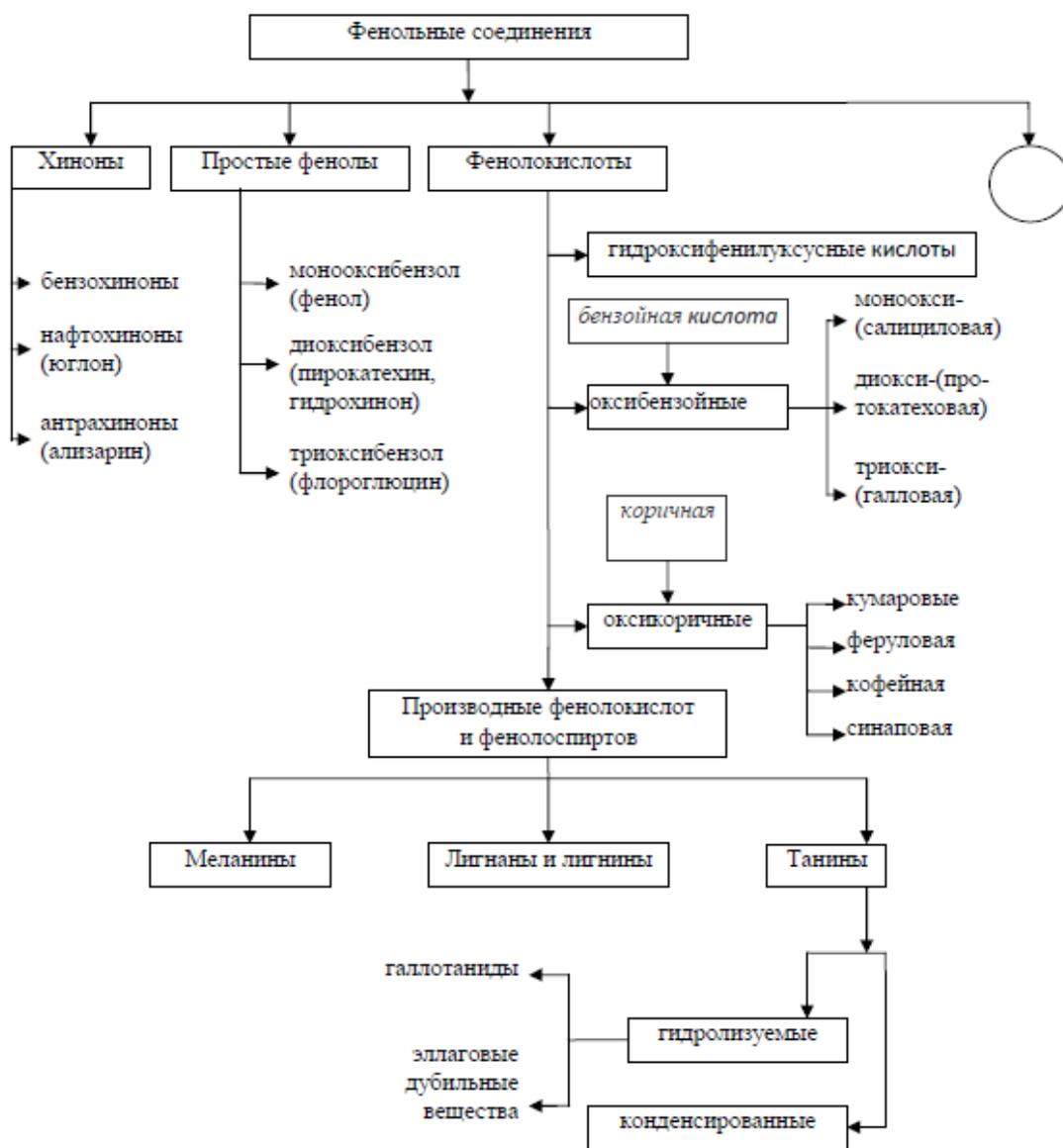


Рисунок 1.1. – Классификация биологически активных веществ фенольной природы

Все флавоноиды можно рассматривать как 2(3)(4)-фенильные производные хромана: флаваны, изофлаваны, неофлаваны или 1,1-, 1,2- и 1,3-дифенилпроизводные пропана, за исключением открытоцепочечных соединений – халконовидов и гидрохалконов.

Группа флаванов представлена наиболее широко. (Семенов А.А. Очерк химии и

природных соединений. Новосибирск: Наука. Сиб. издат. фирма, 2000. 664 с.) Это флавоны (VII), флавонолы (VIII), флаваны, флаваноны (V), флаван-3-олы (катехины) (II), флаван-4-олы, флавандиолы (лейкоантоцианы) (III), антоцианидины (IV), а также более сложные структуры - пиранофлавонолы и флаволигнаны.

На рисунке 2 представлены структурные формулы флавоноидов.

Таким образом, существующее многообразие флавоноидов определяется:

- степенью окисленности гетерокольца;
- характером сочленения ароматических колец;
- степенью их конденсации;
- природой и количеством заместителей;
- их положением (расположением);
- наличием оптически активных форм.

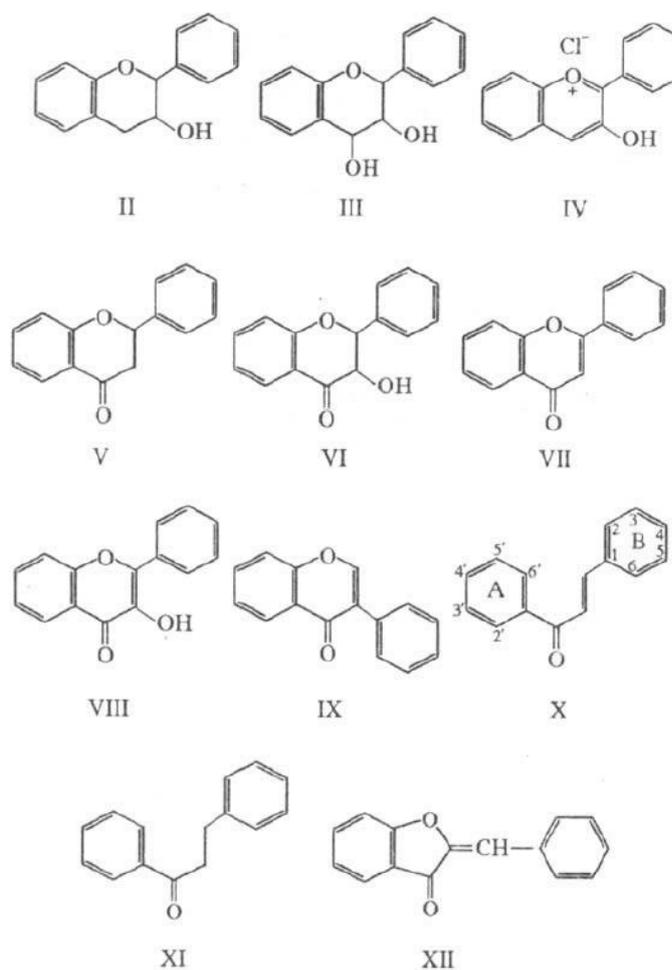


Рисунок 1.2 – Структурные формулы флавоноидов

Флавоны являются желтыми красящими веществами растений. Известно более 40 агликонов флавоновой природы – лютеолин, апигенин, трицин, хризин, динатини др. Встречаются в растениях в виде агликонов, но наиболее частов виде гликозидов двух рядов: О-гликозиды и С-гликозиды. Образование последних является характерной особенностью флавонов. С-гликозиды обладают большой устойчивостью к кислотному гидролизу и не атакуются гидролитическими ферментами. [Аверьянова 2010]

Флавонолы наряду с флавонами принадлежат к желтым красящим веществам растений, издавна применявшихся для крашения тканей. Это наиболее многочисленная группа флавоноидных соединений. Известно около 70 агликонов, самыми распространенными из которых являются:

– *кемпферол* (из листьев вереска, ягод крушины и т.д.);

– *кверцетин* содержится в виде гликозида кверцитрина (или кверцитин-рамнозида) в коре красильного дуба (*Quercus tinctoria*) и в целом ряде других растений (виноград, хмель, чай, ясень, молочай, фиалка и т.д.); *рутин* (3-рутинозид кверцетина) – наиболее известный гликозид кверцетина, выделенный впервые из руты (*Ruta graveolens*) и найденный затем в большом числе других растений. Рутин применяется в медицине в качестве капилляроукрепляющего средства, хотя по своей активности уступает катехинам; в виде других гликозидов и в свободном виде встречается в хмеле, чае, цветах красной розы и желтой мати- и-мачехи). Метилвый эфир кверцетина – *рамнетин* – содержится в виде гликозида в ягодах крушины. (Там же)

Флаваноны по сравнению с другими флавоноидами встречаются довольно редко, известно около 30 представителей этой группы. Они найдены в семействах *Rosaceae*, *Rutaceae*, *Leguminosae*, *Compositae*. Особенно характерны для плодов семейства *Citrus*. Характерной особенностью флаванонов является легкость их

изомеризации в соответствующие халконы: нарингенин → халконарингенин. Щелочные условия благоприятствуют образованию халконов, кислоты приводят к накоплению флавононов.

Флаванолы (дигидрофлавонолы) содержат два асимметрических атома углерода (C_2 и C_3) и могут существовать в виде четырех изомеров в двух рацематов. Наибольшее число дигидрофлавонолов идентифицировано в древесине хвойных и лиственных пород растений, однако они найдены также в кустарниковых и травянистых растениях. [Fatope M.O. 2003]

Флаван-3-олы (катехины) содержатся в большинстве съедобных плодов и ягод, во многих древесных растениях, молодых побегах чайного растения, бобах какао, плодах колы и пр. [Аверьянова Е.В. 2010] Их отличает наличие двух асимметрических атомов углерода C_2 и C_3 , поэтому каждый катехин существует в виде четырех изомеров в двух рацематов. Доминируют (+)-катехины и (-)-эпикатехины (рисунок 1.3). Обладают наиболее высокой Р-витаминной активностью по сравнению с другими флавоноидами. Очищенные препараты катехинов получают из чайных листьев и применяют в медицине

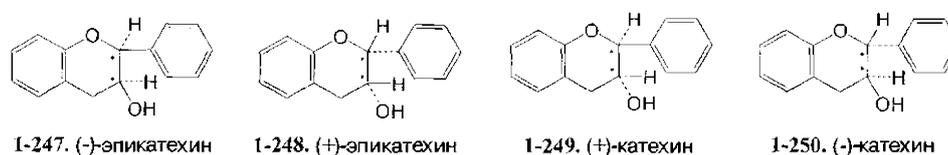


Рисунок 1.3 – Структурные формулы катехинов

Флаван-3,4-диолы (лейкоантоцианидины) отличаются различной степенью конденсации: мономерные, димерные и более высокомономерные производные, называемые проантоцианидинами. Разнообразие флаван-3,4-диолов связано с наличием в их структуре трех асимметрических атомов углерода (C_2 , C_3 , C_4), что обуславливает возможность существования для каждого лейкоантоцианидина восьми изомеров и четырех рацематов. [Корулькин Д.Ю. 2007] На рисунке 4 представлены структурные формулы лейкоантоцианидинов.

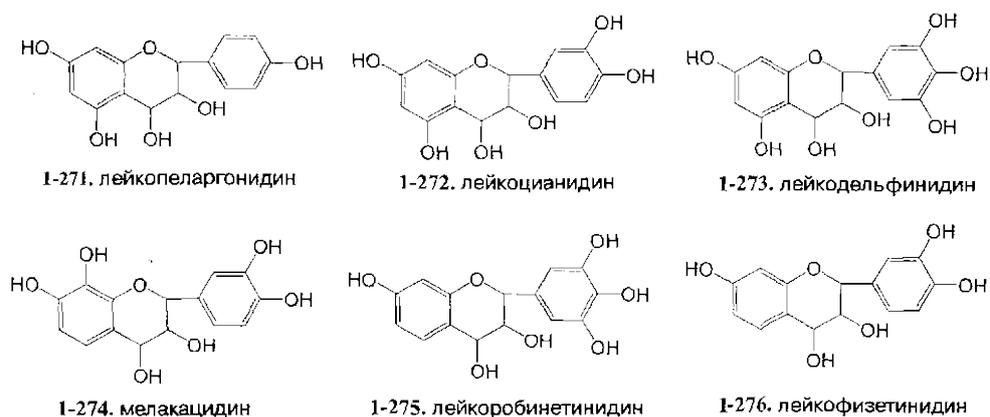


Рисунок 1.4 – Структурные формулы лейкоантоцианидинов

Антоцианидины их гликозиды *антоцианы* представляют собой производные

катиона флавилия (2-фенилбензопирилия). Антоцианы – важнейшие пигменты цветов, плодов и т. д., придающие им синюю или красную окраску с разными сочетаниями и переходами. Антоцианы растворимы в воде, антоцианидины – нерастворимы. Благодаря свободному положительному заряду в кислом растворе антоцианидины ведут себя как катионы и образуют соли с кислотами, в щелочном

– как анионы и образуют соли с основаниями. В зависимости от pH среды изменяется окраска антоцианов. Соли катионов антоцианов окрашены в красный цвет разных оттенков. Щелочные соли антоцианов окрашены в синий цвет.

Различают шесть главных антоцианидинов: пеларгонин, цианидин, дельфинидин, мальвидин, пеонидин и петунидин. Реже встречается апигенин. Пигменты многих плодов и цветов представляют собой смесь различных антоцианов. [Аверьянова Е. В. 2010] В таблице 1 представлена характеристика наиболее распространенных антоцианов.

Таблица 1.1. – Характеристика наиболее распространенных антоцианов

Антоциан	Антоцианидин (агликон)	Углевод	Распространение
Пеларгонин	Пеларгонидин	Две глюкозы	Пеларгония, астры, далия
Пеонин	Пеонидин	Две глюкозы	Пион
Цианин	Цианидин	Две глюкозы	Роза, василек, далия
Керацианин	Цианидин	Рамноза, глюкоза	Вишня
Пруницианин	Цианидин	Рамноза, глюкоза	Слива
Дельфин	Дельфинидин	Рамноза, глюкоза	Шпорник
Вигланин	Дельфинидин	Рамноза, глюкоза	Мать-и-мачеха
Энин	Мальвидин	Глюкоза	Виноград
Геснерин	Апигенин	Глюкоза	Геснерия

Флаваны, незамещенные в пирановом кольце, – наиболее восстановленная группа соединений, обнаружена в надземной части одиннадцати семейств растений. На рисунке 1.5 представлены структурные формулы флаванов.

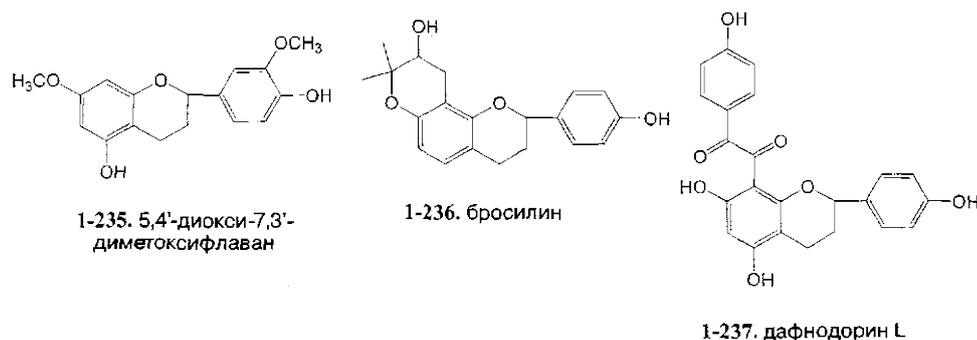


Рисунок 1.5 – Структурные формулы флаванов

В группу *изофлаванов* входят *изофлаваны*, *изофлавоны*, *изофлаваноны*, *арилкумарины*, *тетрациклические флавоноиды*: *кумаронохроманы*, *птеро- и оксиптерокарпаны*, *дигидроптерокарпаны*, *куместаны*, *ротеноиды*, *оксиротеноиды* и *дигидроротеноиды*.

Изофлавоны также являются многочисленной группой природных соединений, обнаруженных чаще в растениях семейств Fabaceae, Iridaceae и Rosaceae. [Yenesew A. 2003]

Изофлаваноны впервые описаны при изучении растений семейства бобовых . [Корулькин Д. Ю. 2007] Наряду с традиционными заместителями эти соединения часто содержат один или два С-пренильных остатка. На рисунке 6 представлены структурные формулы изофлаванонов.

Изофлаваны отличаются большей степенью замещенности кольца В, а кольцо А на рисунке 1.6 представлены структурные формулы изофлаванов.

Существенно меньшим числом структурных типов представлены производные *неофлавана*. К ним принадлежат замещенные неофлаваны, арилкумарин и цинхонаины (комбинация флаван-3-ола и неофлавана).

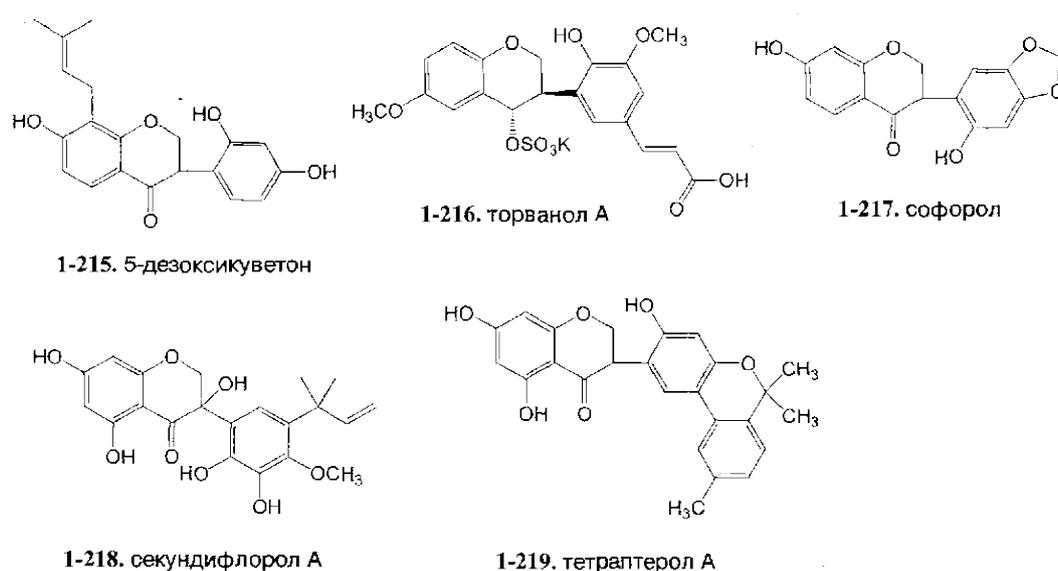
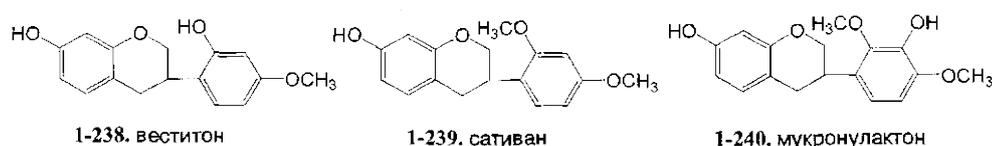


Рисунок 1.6 – Структурные формулы изофлаванонов



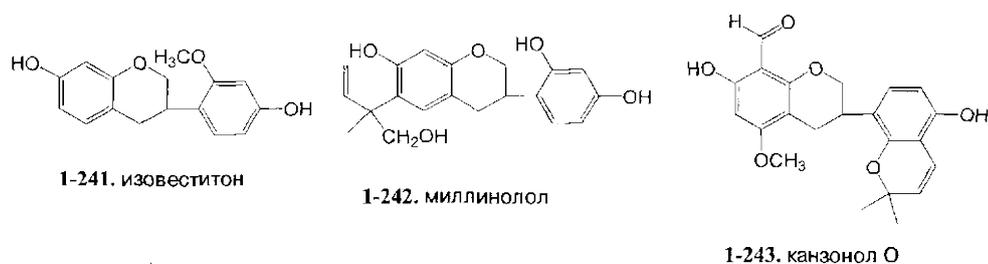


Рисунок 1.7 – Структурные формулы изофлаванов

*Неофлаван*ы относятся к малочисленной группе соединений и являются спутниками 4-фенилкумариновых халконов. На рисунке 8 представлены структурные формулы неофлаванов.

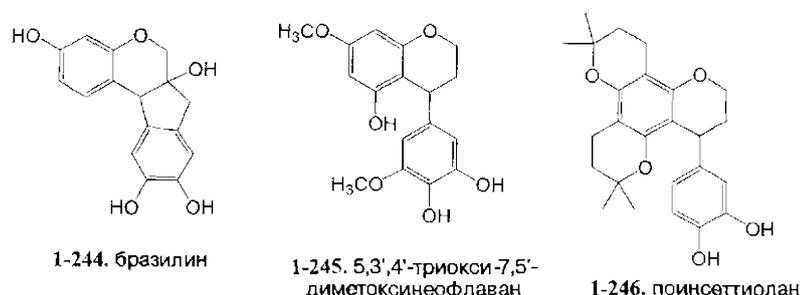


Рисунок 1.8 – Структурные формулы неофлаванов

Особую группу образуют *ауроны* и *фураноауроны*, являющиеся продуктами окислительной циклизации халконов.

Ауроны, отличающиеся локализацией заместителей, продуцируются в цветах, режечке, древесине и листьях, имеют ярко-желтую окраску. На рисунке 9 представлены структурные формулы ауронов.

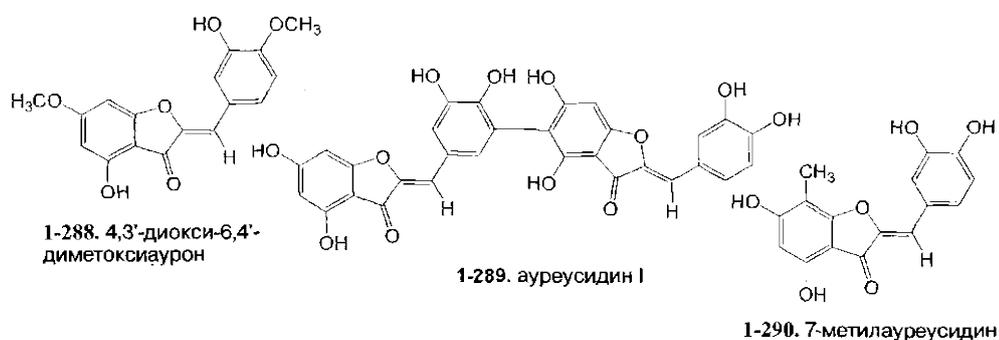


Рисунок 1.9 – Структурные формулы ауранов

Открытоцепочечные флавоноиды, халконы, широко представлены во всех органах растений в виде гликонов и гликозидов и отличаются числом заместителей в кольце В. [Корулькин Д.Ю. 2007] Большинство халконов – вещества, окрашенные в различные оттенки желтого цвета. Нередко они входят в состав хромофорных комплексов, обуславливающих окраску цветов, как, например, часто встречающийся в семействе сложноцветных халкон *бутеин*. Окисление халконов способствует углублению окраски. Многие халконы обладают фунгицидным и бактерицидным действием. Биосинтез некоторых из них «запускается» в ответ на заражение растений патогенными микроорганизмами, т.е. определенные халконы выполняют защитную функцию (*пиностробин* сосны и др.). Будучи α - и β -ненасыщенными кетонами, халконы являются весьма реакционноспособными веществами и вступают в многочисленные вторичные реакции, основными из которых являются димеризация, гликозилирование и восстановление [Аверьянова Е.В. 2010].

Дигидрохалконы относятся к числу редких встречающихся флавоноидов, но найдены во всех органах растений в виде гликонов, гликозидов, а также метокси- и пиранопроизводных. Наиболее известным представителем дигидрохалконов являются *флоридзин* (флоретин-2'-гликозид), *сиболдин* (3-оксифлоретин-4'-гликозид), *азебогенин* в виде 2'-гликозида азеботина. [Блажей, А. 1977]

Димерные структуры отличаются С-С и С-О-Стипами связей между мономерными фрагментами и так же достаточно широко представлены в растениях. [Семенов А.А. 2000] Димерные структуры флавоноидов представлены на рисунке 1.10.

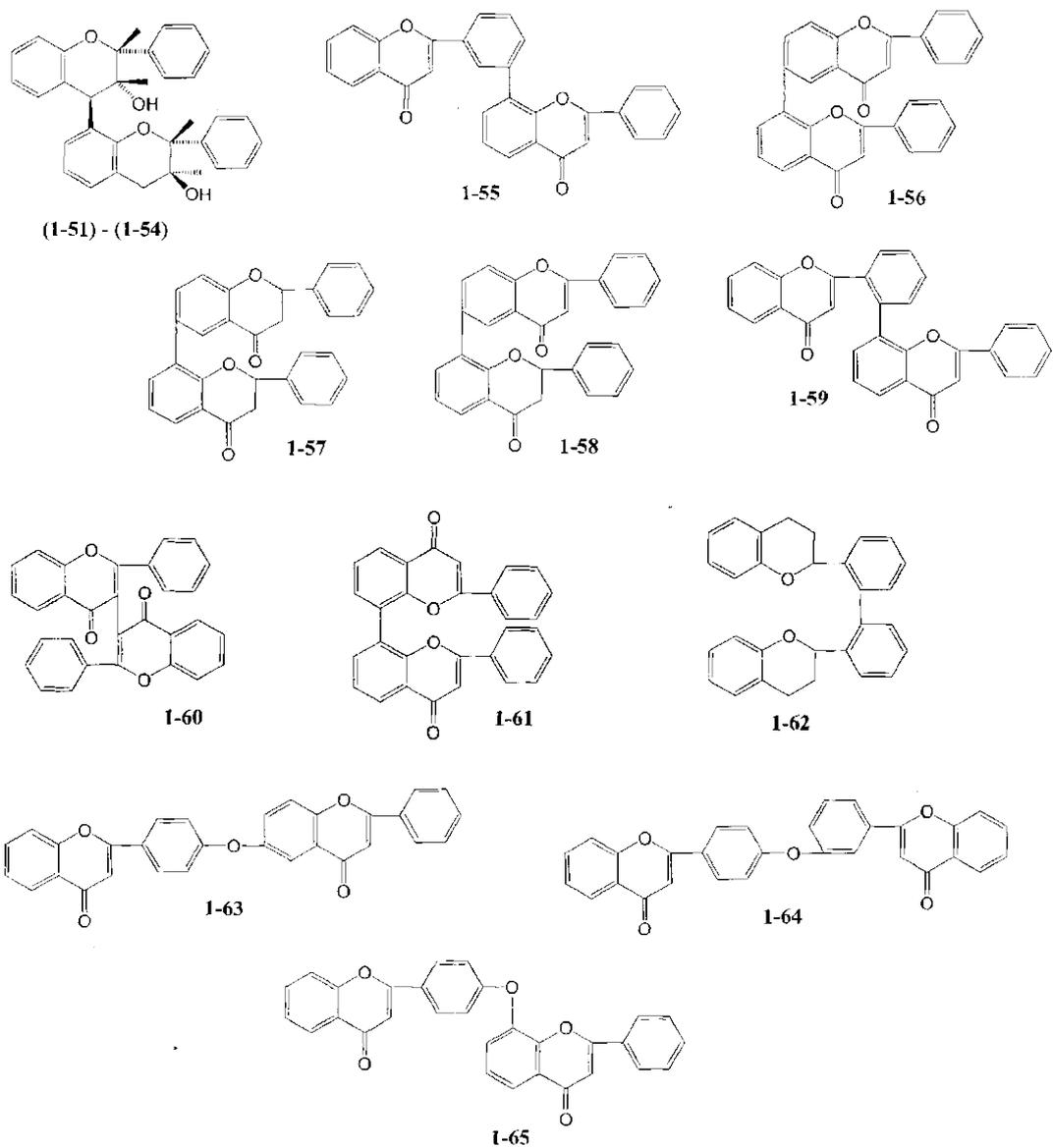


Рисунок 1.10– Димерные структуры флавоноидов

Своеобразную группу флавоноидов составляют *флавоноидные алкалоиды* и пафицина (1-66), (1-67) и *иртеноидные флавоноиды*, например, *фистигматины* (1-68), (1-69). [Schluzmidt J. 2000.] На рисунке 1.11 представлены флавоноидные алкалоиды.

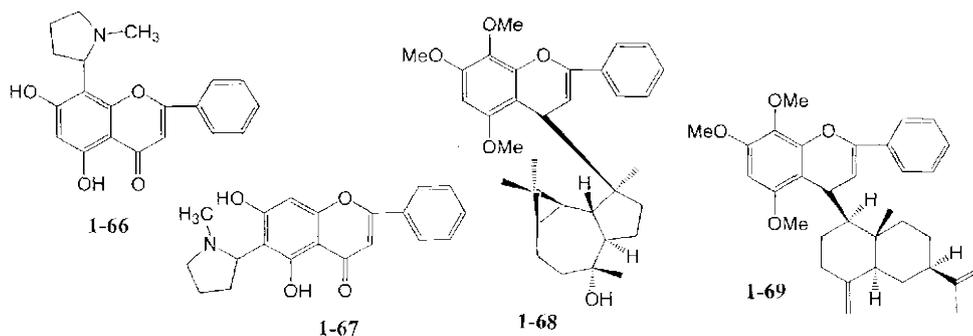


Рисунок 1.11 – Флавоноидные алкалоиды

Конденсированные флавоноиды, называемые *флаволанами* или *конденсированными дубильными веществами*, локализуются преимущественно в коре, древесине, корнях, корневищах, в меньших количествах – в листьях и плодах, особенно незрелых. По химической природе это главным образом олиго- и полимеры катехиновой и флаван-3,4-диолевой природы. Известно также небольшое число флаволанов-производных 5-дезоксикатехина, 6-дезоксигаллокатехина и их 3-гликозидов. Поскольку при кислотном гидролизе конденсированных дубильных веществ образуются антоцианидины, их называют проантоцианидинами. Структурные формулы проантоцианидинов представлены на рисунке 1.12.

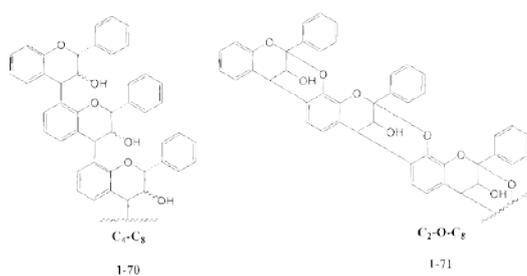


Рисунок 1.12 – Структурные формулы проантоцианидинов

Широко распространены гликозидированные формы, в основном представленные О-гликозидами, более редкую группу составляют С-гликозиды. Углеводные фрагменты обычно содержат 1-3 остатка моносахарида, в роли

которых выступают D-Glu, D-Gal, D-Xyl, L-Rha, L-Ara их ацилированные формы, например, (1-76)-(1-80). [Lokvam J. 2004.] На рисунке 1.3 представлены гликозидированные формы флавоноидов.

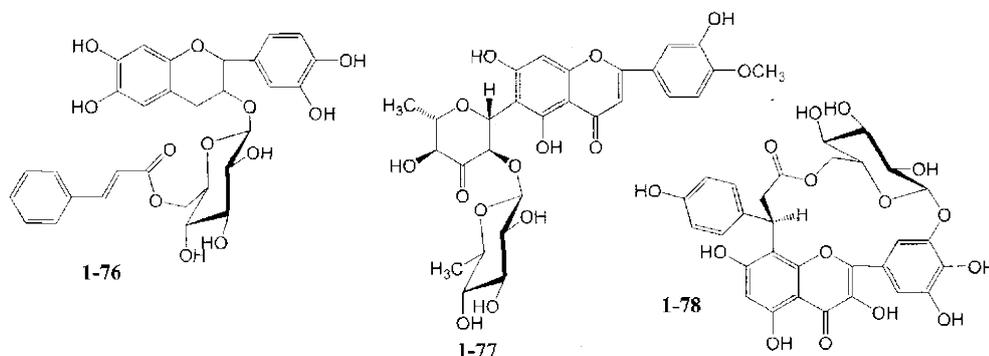


Рисунок 1.13 – Гликозидированные формы флавоноидов

1.3. Биологическая активность флавоноидов

Флавоноиды - наиболее многочисленный класс природных фенольных соединений, которым характерно структурное многообразие, высокая и разносторонняя активность и малая токсичность. [Meyer A. S. 1994]

Направление биологического действия флавоноидов связано с физико-химическими свойствами различных структур, в том числе с конформациями молекул, наличие которых обеспечивает, например, радиопротекторные и антиоксидантные свойства. Флавоноиды содержатся в овощах, фруктах, цветах, семенах, стеблях и корнях растений, которые служат источником их поступления в организм животных и человека. В гликозидированной (гликозиды) и негликозидированной (агликоны) формах флавоноиды накапливаются преимущественно в эпидермальных клетках цветов, листьев, стволов (стеблей), корней, семян и плодов растений. [Либберт Э. В. 1976]

При этом ввиду низкой растворимости в воде агликоны локализованы главным образом в жировых каплях и восковых слоях.

Установлено, что флавоноиды обладают выраженными антиаллергическими, антиканцерогенными, противовоспалительными и противовирусными свойствами.

Большое значение придается противовоспалительному действию флавоноидов, с которым, вероятно, связаны их противоязвенное, ранозаживляющее, жаропонижающее и вяжущее действие.

Привлекают внимание и антимикробные свойства флавоноидов. Так, выявлено отрицательное влияние кверцетина на грамположительные бактерии, флавонов и халконов - на стафилококк. Антимикробными свойствами в отношении стафилококков, стрептококков и *Escherichia coli* обладают (-) - эпигаллокатехин > (±)-галлокатехин > очищенная и окисленная сумма катехинов.[MazzaG.1995]

Суммарные препараты и индивидуальные флавоноиды (кверцетин, кемпферол, изорамнетин) оказывают влияние на белковый обмен (стимуляция синтеза и торможение распада белков).

Необходимо упомянуть также эстрогенное действие изофлавонов, которые благодаря этому свойству могут воздействовать на воспроизводительную функцию организма. Суммарный флавоноидный препарат из трифоли гибридной, в которой доминируют кверцетин, изокверцитрин, популнин и др., влияет на половой цикл, вес тела и внутренних органов их действие на стенки кровеносных капилляров. Способность к нормализации капиллярной системы организма доказана для флавонов и флавонолов, катехинов, лейкоантоцианидинов и флаванонов.

Многочисленные исследования показали, что Р-витаминной активностью обладает целая группа разных по структуре соединений, относящихся к классу флавоноидов. Более того, выяснилось, что помимо кверцетина, рутина и гесперетина капилляроукрепляющим действием

обладали антоцианы, кумарины, фенолокислоты и представители других групп растительных фенольных соединений.

О защитных свойствах флавоноидов свидетельствуют фактические данные: тепличные растения содержат меньше полифенолов, чем произрастающие в открытом грунте; листья, освещенные солнцем, богаче рутином, чем находящиеся тени; избыток радиации и УФ-облучения, болезни стимулируют биосинтез полифенольных соединений, поэтому больные растения содержат больше флавоноидов по сравнению со здоровыми.[Владимиров Ю.А. 1991]

Резкие колебания в накоплении флавоноидов в период бутонизации — цветения и сравнительная стабильность флавонолового состава в изменяющихся условиях среды могут свидетельствовать об адаптации обмена веществ к внешним условиям и роли флавоноидов в этих процессах.

Богатые резервы таят в себе флавоноидные препараты в борьбе за продление жизни человека, так как некоторые из них обладают противоатеросклеротическим действием и антиоксидантными свойствами, замедляющими процессы старения организма. Антисклеротическое действие флавоноидов, по-видимому, связано также с их желчегонным эффектом, так как известно, что желчегонные средства благоприятно влияют на липидный обмен, увеличивая выведение холестерина из организма.

При изучении желчегонного действия установлено, что суммарные экстракты растений превосходят по активности выделенные из них индивидуальные флавоноиды, которые, усиливая желчеотделение, улучшают детоксицирующую способность по отношению к таким веществам, как барбитураты и мышьяк.[Лобанова, 2003]

Детоксикации организма способствует также свойство флавоноидов оказывать мочегонное действие, например, некоторые флавоноиды, выделенные из растений семейства норичниковых, благоприятно влияют на пищеварение, повышая тонус кишечника и мочевыводящих путей.

Поскольку известно, что общим звеном развития многочисленных патологий является активация перекисного окисления, чаще всего липидов, многие исследователи объясняют широкий спектр биологического действия флавоноидов их антиоксидантной активностью.

В настоящее время общепризнанны следующие три молекулярных механизма антиоксидантного действия флавоноидов в биологических системах:

- реакции с биорадикалами (антирадикальное действие);
- связывание металлов с переменной валентностью (хелатирующее действие);
- ингибирование прооксидантных ферментов.

Взаимосвязь структуры и антиоксидантной активности 27 флавоноидов, продуцируемых растениями Центральной Азии, изучена на примере пяти изофлавонов, пяти флавонов, десяти флаванолов и семи флаванолов. Показано, что флавоноиды как полифенолы могут быть "ловушкой" свободных радикалов и тормозить перекисное окисление.

Сравнение структурных особенностей изученных соединений показало, что строение основного ядра (изофлавонон - флавонон) не оказывает существенного влияния на антиоксидантную активность, а гликозилирование и метоксилирование даже несколько снижают эти свойства.

Флавоноиды как антиоксиданты играют важную роль в предупреждении нарушений структуры и функции печени при различной патологии, ускоряя регенерацию и восстанавливая функциональную активность гепатоцитов, особенно в комплексной терапии острого и хронического гепатита и цирроза печени. [NaturalAntioxidants- 1997]

Флавоноиды активны в отношении радикалов, возникающих в липидной и водной фазе, и ингибируют процессы перекисного окисления липидов как на стадии инициации, взаимодействуя с активными формами

кислорода, так и на стадии продолжения цепи, выступая донорами атомов водорода для липидных радикалов.

Структурный анализ и экспериментальные данные свидетельствуют о прямой взаимосвязи между антиоксидантной эффективностью флавоноидов и количеством фенольных ОН-групп в их молекулах. Исследование разных по структуре флавоноидов показало, что соединения без ОН-заместителей или с одной гидроксильной группой в положении 5 флавонового ядра не проявляют сколько-нибудь значимой активности в отношении перекисных радикалов; эффективность флавонов с одним ОН-заместителем в положениях 3, 6, 2', 3' или 4' составляет меньше 60 % эффективности тролокса. Флавонолы и флавоны, такие как кемпферол, лютеолин, кверцетин, мирицетин, содержащие от двух до шести фенольных ОН-групп, в 2-4 раза превосходят тролокс по способности ингибировать перекисные радикалы, а изофлавоны дайдзеин (две ОН-группы) и генистеин (три ОН-группы) - соответственно в 1,6 и 2,4 раза. Многочисленные экспериментальные исследования в водных системах позволили выявить наиболее важные для антирадикальной активности структурные элементы молекул флавоноидов:

- две ОН-группы в положениях 3' и 4';
- двойная связь между С2 и С3 атомами углерода, желательно совместно с карбонильной группой в положении 4;
- ОН-группы в положениях 3 и 5 совместно с карбонильной группой.

Многие флавоноиды действуют как хелаторы ионов металлов [Георгиевский, 1990] переменной валентности и способны, таким образом, ингибировать процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) на стадии разветвления цепей, когда ионы металлов индуцируют гомолиз органических перекисей. Флавоноиды (кверцетин, мирицетин, кемпферол, рутин и др.) могут не только связывать, но и восстанавливать или окислять ионы металлов

переменной валентности и, таким образом, стимулировать или ингибировать свободнорадикальные процессы.

Следует подчеркнуть, что металлокомплексы флавоноидов могут образовываться непосредственно в крови и в тканях, и в этом случае между двумя механизмами, обуславливающими антиоксидантное действие флавоноидов – антирадикальным и хелатирующим – будет иметь место положительная обратная связь. В гетерофазных системах, таких как клетки или липопротеины, антиоксидантная эффективность флавоноидов во многом определяется их липофильностью и гидрофильностью.

Во многих исследованиях у флавоноидов выявляется как антиоксидантный, так и прооксидантный эффект, особенно в присутствии ионов металлов переменной валентности. Присутствие ионов железа и меди усугубляет прооксидантные свойства флавоноидов. [Георгиевский, В.П. 1990]

Антиоксидантная активность фенолов винограда проявляется, в частности, в противодействии всем агентам и механизмам, активизирующим и усиливающим процессы свободнорадикального окисления и липидной перекисидации. Таково, в частности, действие большинства токсинов и противоопухолевых химиопрепаратов. Так, предварительное недельное введение крысам экстрактов проантоцианидинов винограда достоверно защищает от гепатотоксичности, вызванной введением ацетаминофена, повреждения легких амидароном, а селезенки — диметилнитрозамином, от нефротоксичности, индуцированной кадмием, и нейротоксичности мокапа. Проантоцианидины благодаря их способности связываться с белками покрывают поверхность слизистой оболочки и защищают ее от воздействия свободных радикалов. Гликозиды антоцианов (500 и 250 мг/кг) вводили крысам per os на водном растворе за 1 ч до введения одного из провоспалительных агентов (гиалуронидазы, формалина, гистамина, серотонина), а в хвостовую вену — красителя синего Эванса. Через 2 ч после декапитации в качестве критериев воспаления определяли окрашенную

площадь, вес очага воспаления и концентрацию в нем красителя. Антоцианы проявили отчетливую противовоспалительную и антидиффузионную (депонирующую) активность при действии гиалуронидазы, противодиффузионную активность — при введении формалина, гистамина и серотонина .

Комплекс полифенолов и таннинов из красного вина после 90 дней приема с пищей (от 14 до 57 мг/кг) не вызвал у интактных крыс F344 изменений пролиферации клеток крипт слизистой оболочки толстой кишки, но предотвращал эффект канцерогена азоксиметана]. Тот же комплекс защищал от нескольких типов повреждений ДНК, вызванных окислительным стрессом, снижая уровень 8 - гидроксидезоксигуанидина и его соотношение с 21 - дезоксигуанидином. Дельфинидин обладает фунгистатическим действием в отношении прорастающих конидий гриба *Fusarium solani*, однако в присутствии достаточного количества глюкозы эффект становится незначительным. Как и другие флавоноиды, он также обладает антиамебным действием [Запрометов М. Н. 1993].

Многочисленные исследования посвящены антиканцерогенному и противоопухолевому действию фенолов винограда, вызывающих ингибирование активации фактора транскрипции NF - κ B, который обладает противовоспалительной активностью и ускоряет пролиферацию клеток. Так, крысы самцы Sprague=Dawley получали 15%_ю добавку к диете концентрированного экстракта винограда (680 г/л), который существенно тормозил гепатоканцерогенез, вызванный введением 200 мг/кг диэтилнитрозамина при удалении 2/3 печени. При этом наблюдалось уменьшение количества очажков пролиферации, содержание в печени ТБК_активных веществ и активность синтазы желчных кислот. Проантоцианидины винограда обладают также антимуtagenной и противовирусной активностью. На линиях опухолевых клеток показано антипролиферативное действие антоцианов и других флавоноидов.

1.4. Характеристика вторичного виноградногосырья и его использование в промышленности

- Основными и очень популярным продуктом, получаемым из винограда, является виноградное вино. Однако при его производстве образуется очень большое количество отходов - виноградных выжимок и семян. А ведь именно эти продукты могут стать исходным сырьем для производства полуфабрикатов, содержащих повышенное количество биологически активных соединений [Басий Н.А. 2003].

- Одно из важнейших свойств виноградных выжимок и семян - способность выступать в качестве антиоксидантов, то есть тормозить процессы окисления липидов в жиросодержащих системах: франкфуртских сосисках, говяжьей колбасе, спинном жире свинины, куриных грудках [Qiu F. 2011].

- В рамках современной теории позитивного питания актуальна разработка биологически ценных продуктов вина и питков на основе вторичного виноградногосырья, содержащего минеральные вещества, органические кислоты, полиненасыщенные жирные кислоты, витамины, аминокислоты, пектиновые вещества и т.д. [Покровский А.А. 1977].

- Исследование дегидратированных отходов виноградной кожицы в качестве добавки для производства розовых вин, показало, что полные факториальные планирования эксперимента совместнос факторным анализом и многофакторным анализом дисперсии обеспечивают оценку каждого параметра в соответствии с составом цветовых оттенков, фенольных и ароматизирующих соединений. Более длительное время мацерации способствует экстракции антоцианов. Дозировка влияет на выделение фенолов независимо от других факторов. Авторы работы доказали, что после трех месяцев хранения состав розовых вин сохраняется стабильным [Басий Н.А. 2003].

- В своих исследованиях [Гапенко Ю.В., 2004] авторы изучали перспективы использования виноградской выжимки как источника биологически активных добавок. В данной работе учеными было исследовано влияние режима сушки свежесжатой виноградской выжимки с помощью экспериментальной установки на микробиологическую чистоту высушенного продукта, состояние которого оценивали согласно действующей нормативно-технической документации. Пробы высеивали на селективные среды, а микробиологическое состояние продукта определяли путем микроскопирования проб. Мезофильные аэробные и факультативно-аэробные микроорганизмы выявляли на мясопептонном бульоне с глюкозой и углекислым кальцием, а дрожжи и жизнеспособные плесневые грибы – на агаризованном солодовом сусле. Посевы термостатировали при $30 \pm 0,5^\circ\text{C}$ в течение 5 суток, ежедневно контролируя появление признаков роста микроорганизмов. Оптимальной температурой сушки было принято считать сушку при $50-60^\circ\text{C}$ в течение 3 ч: при этом сохранялась микробиологическая чистота продукта при нормативной влажности высушенного сырья. Согласно данным предварительных исследований при этой температуре сохранялся основной химический состав виноградской выжимки.

В статье [Басий Н.А. 2005] изучена сравнительная характеристика виноградных семян как источника растительного масла. Авторами работы было установлено, что в липидах семян винограда белых сортов суммарное содержание ненасыщенных жирных кислот выше и составило более 92%, чем в липидах семян винограда красных сортов, при этом надолую линолевоую кислоту белых сортов винограда приходилось более 74% от общего количества жирных кислот. В липидах семян винограда, выращиваемого в Анапском районе, содержащиеся насыщенной пальмитиновой кислоты больше, а стеариновой кислоты

незначительно меньше. Таким образом, все менах белых и красных сортов винограда, выращиваемого в Анапском и Темрюкском районах, имеются различия по содержанию липидов и их составу. Однако для использования виноградных семян как сырьевого масличного ресурса эти различия незначительны, что позволяет осуществлять переработку сортовой смеси для получения растительного масла.

Российские ученые [Дудкин М. 2001] исследовали качество хлебобулочных изделий при введении добавок топинамбура, белково-волоконистой композиции на основе вторичных продуктов переработки сои, композиционной добавки на основе пищевых волокон пшеничных отрубей и денуклеинизированных хлебопекарных дрожжей, лечебно-профилактической добавки на основе пивных дрожжей, композиции на основе топинамбура и пшеничных отрубей, пещевых волокон люцерны, ПВЛТоп – композиция на основе пещевых волокон люцерны и топинамбура, жмыха виноградных семян, пищевых волокон виноградных выжимок в количестве 5% по массе хлебобулочные изделия заменой основного компонента – муки – на соответствующее количество добавки. В ходе исследований было выявлено, что добавки придают продукции диетический характер, а также расширяют ассортимент продукции целевого назначения для больных колитами, холециститами, атеросклерозом, сахарным диабетом, в восстановительный период после заболевания гепатитом, в послеоперационный период для повышения адаптогенных и иммунозащитных сил организма, для детоксикационных целей и для защиты от радионуклидов.

В работе [Choi Y. - S. 2010] авторами рассмотрена оптимизация замещения свиного жира свиного масла из семян винограда и клетчаткой рисовых отрубей для получения мясных эмульсионных систем с пониженным содержанием жира (табл. 1.1). Влияние снижения уровня свиного жира с 30% до 20% и частичного замещения свиного жира смесью масла из семян винограда (0,5, 10 и 15%) и 2%

клетчатки рисовых отрубей изучали на основе оценки химического состава, кулинарных характеристик, физико-химических текстуральных свойств и вязкости мясных полуфабрикатов с пониженным содержанием жира. Для мясных полуфабрикатов с пониженным содержанием жира, содержащих масло из семян винограда и клетчатки рисовых отрубей, авторы работы изучали такие показатели как содержание влаги, зольность, значение pH без обработки теплом и тепловой обработкой. Желтизна, когезивность, клейкость, разжевываемость, растворимость саркоплазматического белка, были выше, чем в контрольных образцах.

Таблица 1.2 - Мясные полуфабрикаты с добавлением масла виноградных семян и клетчатки рисовых отрубей

Ингредиенты	Контроль	T1	T2	T3	T4	T5
Свиное мясо	50	50	50	50	50	50
Жир	30	20	20	15	10	5
Масло виноградных семян	0	0	0	5	10	15
Лед	20	30	28	28	28	28
Клетчатка рисовых отрубей	0	0	2	2	2	2
Всего	100	100	100	100	100	100
Соль	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Триполифосфат натрия	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Соевый белок	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Нитрат натрия	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Сахар	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

*Контроль: свиной жир(30%), T1: свиной жир(20%), T2: свиной жир

(20%)+клетчатка рисовых отрубей(2%), T3: свиной жир(15%)+масло виноградных семян(5%)+клетчатка рисовых отрубей(2%), T4: свиной жир(10%)+масло виноградных семян(10%)+клетчатка рисовых отрубей(2%), T5: свиной жир(5%)+масло виноградных семян(15%)+клетчатка рисовых отрубей(2%).

Согласно данным представленным в статье образцы с повышенными концентрациями масла из семян винограда имели меньшую потерю при

кулинарной обработке, эмульсионную стабильность и кажущуюся вязкость. Таким образом, включение масла из семян винограда и клещатки рисовых отрубей позволило снизить содержание животного жира в конечных продуктах, в то же время улучшая другие характеристики.

В работе [Qiu F. 2011] ученые использовали масло виноградных семян при производстве биодизеля. Авторами работы были изучены параметры процесса трансэтерификации смеси масла виноградных семян и сои в присутствии катализатора – мольное соотношение метанола к маслу, температура реакций, количество катализатора и время реакции. Исходя из данных статьи оптимальному режиму соответствует мольное соотношение 5:1, температура 55°С, количество катализатора 0,8% сухого вещества, время реакции 2 часа. Качественный состав получаемого биодизеля анализируется на спектрометре.

Установлено, что виноград и виноградные соки способны защитить сердечную деятельность, как и красное вино [Falchi M. 2006]. В опытах на крысах в течение 30 дней показано, что мякоть кожицы винограда так же благотворно влияет на сердечную деятельность. Методом ВЭЖХ установлено, что и кожица, и мякоть содержат сравнимые количества глюкозы, фруктозы, винной, маликовой, шикимовой и каftarовой кислот. По сравнению с кожей мякоть содержит меньше количества катехина/эпикатехина, кумаровых, коутаровых и ряда других соединений. Суммарное содержание фенолов ниже в мякоти. Антоцианы присутствуют только в кожице мякоти, а антиокислительные активности последних равны.

В работе представлена биотехнология комплексной переработки семян винограда для получения виноградного масла и сорбентов. Для выделения масла виноградных семян использован метод спиртово-масляной экстракции. При исследовании химического состава виноградного масла методом жидкостной хроматографии установлено высокое содержание

линолевой иолеиновойкислот.

Вработе[Шаззо2002]приведенырезультатыисследованияхимическогоосава семянбелыхсортоввинограда.Установлено,чтовлипидахэтихсемян суммарное содержание ненасыщенных кислот выше, чем в липидах семянкрасныхсортов,приэтомнадолюлинолевойкислотыприходится72-75%от общегоколичестважирныхкислот.Масло,выделенноеизвиноградныхсемян, содержитбольшоеколичествоБАВ–фосфолипидов,стеролов, α -токоферолов [Галущенко,2008].Белоквиноградныхсемянпредставленпочтивсеминезаменимыми аминокислотами,атакжевысокимсодержаниемуглеводов,втомчисле гемицеллюлозойицеллюлозой,которыерассматриваютсякакисточники пищевыхволокон,способствующихпроцессупищеваренияу сельскохозйственныхживотныхиптиц.Семенавиноградабелыхсортов представляетсобойнетрадиционноерастительноесырье,всоставекоторого содержитсякомплексБАВиприразработкеспециальнойтехнологии переработкиономожетбытьиспользованодляполучениякормовой биологически активной добавки.

Мукаизсемянвинограда–важныйингредиентдляулучшения питательностииснижениястепениокислениялипидоввфранкфуртских сосисках[ÖzvuralE.B.2011].Мукуизсемянвинограддобавляливсоставфранкфуртских сосисокиопределялиихвлияниенафизическиеиорганолептические характеристикиипитательностьпродукта.Показателицветасосисок уменьшилисьвследствиеповышенияколичествамукиизсемянвинограда. Использованиеэтоймукиатакжеприводилокуменьшениюстепениокисления продуктаиз-заприсутствиявнеиантиоксидантов.Кромеэтого,увеличилось содержаниебелковиобщихдиетическихволокон,атакжеводоудерживающая способность.

Вработе[Sánchez-AlonsoI.2007]изучалсяэффектдобавленияантиоксидантнойпищевой

клетчатки винограда к фаршу из ткани рыбы на стабильность липидов при хранении в замороженном состоянии. Пищевую клетчатку винограда добавляли в разных концентрациях

(табл.1.2).

Таблица 1.3 - Изучение эффекта добавления антиоксидантной пищевой клетчатки к фаршу из ткани рыбы на стабильность при хранении

Образец	День 0	День 90	День 180
0-Пищевая клетчатка винограда	27±3,1	4±0,2	3,4±0,5
2-Пищевая клетчатка винограда	38±3,8	6±0,6	5,3±0,8
4-Пищевая клетчатка винограда	53±3,2	13±1,1	8,1±0,8

Анализ проводился немедленно после приготовления образцов, а также в процессе и после хранения при -20°С. Согласно изученным данным, добавление клетчатки красного винограда значительно замедляет окисление липидов в фарше из ткани ставриды в течение первых трех месяцев хранения в замороженном состоянии.

Сохранение в готовом продукте (эликсире) [Воробьева Т.Н. 2003] необходимых и полезных для организма ферментов, витаминов Р₁, В₁, В₂, В₃, минеральных и других биологически ценных веществ при практически полном исключении из его состава токсичных включений достигается следующим технологическими операциями: дополнительным дроблением виноградных ягод и нагреванием сусласмезгой в строгом температурном режиме и последовательности; дальнейшей выдержкой, охлаждением и отделением сусласмезги; добавлением в сусласмезгу чистой дрожжей хлопьевидного типа местных рас; внесением в спиртованно-сброженное сусло (после отделения от него осадка) витаминов группы В₁₂, В₁₅ и оротовой кислоты. Способ отличается от традиционных технологий тем, что первоначальный нагрев сусласмезгой

выполняется при температуре 46-48°C в течение 10-15ч.

В работе [Исригова Т.А.2010] авторами была исследована возможность повышения пищевой ценности хлебобулочных изделий в результате введения в них добавок, содержащих биологически активные вещества. Объектами исследования стали - добавки из семян, кожицы и гребней винограда. В работе представлены данные о химическом составе и некоторых характеристиках добавок, а также изучены характеристики диетического хлеба "Семейный" с добавками из винограда. Кроме этого авторами работы была установлена возможность замены при производстве указанного продукта синтетических добавок натуральным экологически чистым сырьем, расширения ассортимента изделий лечебно-профилактического назначения, повышения их пищевой ценности, внедрения безотходной технологии переработки винограда и утилизации вторичных ресурсов виноделия, что приведет к экономической эффективности производства.

Слабоалкогольные напитки на основе натурального вторичного виноградного сырья и пряно-ароматических компонентов набирают свою популярность. Так в работе [Моргунова Е.М.2006] проведена разработка технологии и рецептуры слабоалкогольных напитков на натуральной основе, имеющих высокую биологическую и пищевую ценность и обладающих способностью снижать негативное воздействие алкоголя на организм человека. В качестве основных критериев при разработке слабоалкогольных напитков выбраны: использование только натуральных компонентов; содержание алкоголя не более 6% и т.д. Кроме использования вторичного виноградного сырья в пищевой промышленности, не менее популярного его использование для производства биологически активных добавок. Экспериментальное обоснование создания функциональных пищевых продуктов из БАД на основе растительного сырья представлено в работе [Пахомов А.Н.2006]. Учеными разработаны рецептуры функциональных

пищевых продуктов и биологически активных добавок (БАД), потребление которых позволит повысить защитные функции организма и нормализовать его пищевой статус. При разработке рецептур использовались фосфолипидные БАД серии «Витол», БАД «Энотокон» из семян винограда красных сортов, БАД «Янтарная» из выжимок томатов, БАД «Колосок» из солода ячменя и БАД «Чечевичка» из солода чечевицы. Продукты «Биостатус» помимо БАД содержат альгинат Na, аскорбиновую кислоту и вкусоароматические добавки. Разработанные продукты рекомендуется употреблять в виде коктейля при соотношении продукта и охлажденной кипяченой воды 1:8.

Проанализировав данные российских и зарубежных ученых можно сделать следующий вывод: переработка отходов виноделия позволит решить многие и выделить из них полезные вещества, прежде всего фенольные соединения, обладающие антиокислительными и противораковыми свойствами. Кроме того использование вторичного виноградного сырья в пищевой, медицинской и косметической промышленности, позволит минимизировать затраты производства и в конечном счете получить качественный конкурентоспособный продукт.

II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Материалы исследований

Материалами исследований являлись: высушенные виноградные выжимки, и косточки виноградных сортов местные сорта Кора жанжал, Кора гузал, полученные из МЧЖ Агрофирмы «Мехнат»

2.2. Методы исследований

Методы исследований сырья и полученных экстрактов

Определение содержания сухих веществ

Содержание сухих веществ в сырье определяли методом высушивания навески до постоянной массы при 105°C по ГОСТ 28561-90 «Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения сухих веществ и влаги».

Содержание сухих веществ в экстрактах определяли рефрактометрическим методом по ГОСТ 28562-90 «Продукты переработки плодов и овощей.

Рефрактометрический метод определения растворимых сухих веществ».

2.3. Определение содержания клетчатки

Содержание клетчатки определяли методом Кюршнера и Ганека.

1 г измельченного продукта переносят в колбу вместимостью 120 см^3 , приливают 40 см^3 смеси кислот ($3,6\text{ см}^3$ азотной кислоты плотностью $1,4$ и $36,4\text{ см}^3$ 80% -ого раствора уксусной кислоты) и, закрыв колбу обратным холодильником, нагревают на песчаной бане 1 ч. Содержимое колбы в горячем состоянии фильтруют через стеклянный фильтр, предварительно высушенный до постоянной массы при $105-108^{\circ}\text{C}$ и взвешенный, или тигель Гучасасбестовым фильтром (для приготовления фильтров асбест кипятят в смеси азотной и уксусной кислот (1:10) и затем промывают водой). Осадок после отсасывания экстракта промывают 1-2 раза горячим $0,2\text{ M}$ спиртовым раствором гидроксида натрия, затем несколько раз – небольшими порциями дистиллированной воды и

затем 10 см^3 смеси спирта с эфиром. Тигли с чисто белым осадком сушат до постоянной массы при $100-105^\circ\text{C}$, охлаждают в эксикаторе и взвешивают. (Виноградова А. А. и др. Лабораторный практикум по общей технологии пищевых производств. М.: Агропромиздат, 1991. 335 с.)

2.4. Определение витамина С

Определение витамина С проводят по ГОСТ 24556-89 «Продукты переработки плодов и овощей. Методы определения витамина С».

2.5. Определение содержания флавоноидов

Флавоноиды экстрагируют из растительного сырья этиловым спиртом. Содержание определяют по оптической плотности спиртового раствора флавоноидов в присутствии хлористого алюминия на спектрофотометре при длине волны 407 нм .

Около $0,5\text{ г}$ (с погрешностью $\pm 0,0002\text{ г}$) измельченного сырья помещают в круглодонную колбу на 150 мл , прибавляют 50 мл 50% -го этилового спирта, колбу присоединяют к обратному холодильнику и помещают на кипящую водяную баню. Смесь кипятят в течение 30 мин , периодически смывая частицы сырья со стенок колбы встряхиванием смеси, фильтруют через стеклянный фильтр ПОР 40 в мерную колбу емкостью 100 мл . Операцию извлечения повторяют еще один раз 45 мл 50% -го этилового спирта и полученное извлечение фильтруют в ту же мерную колбу. После охлаждения полученного извлечения доводят его объем 50% -м этиловым спиртом до метки и перемешивают. Отбирают пипеткой $2,5\text{ мл}$ полученного извлечения, помещают в мерную колбу на 25 мл , прибавляют 2 мл 2% -го раствора алюминия хлористого и доводят объем раствора 95% -м этиловым спиртом до метки; через 30 мин измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 407 нм в кювету толщиной слоя 10 мм . В качестве раствора сравнения используют раствор,

состоящий из 2,5 мл полученного извлечения, 1 мл 3%-го раствора уксусной кислоты и 95%-го этилового спирта до 25 мл.

Содержание суммы флавоноидов пересчитано абсолютно сухое сырье в процентах (X) вычисляют по формуле

$$X = D \cdot 100000 \cdot \text{И.П.} / (330 \cdot m(100 - b)),$$

где D – оптическая плотность испытуемого раствора;

330 –

удельный показатель поглощения (E_{1%}/1 см) продукта взаимодействия кверцетин-3-арабинозидасалюминия хлоридом в 95%-м этиловом спирте при длине волны 407 нм;

m – масса сырья, г;

b – потеря в массе при высушивании, %;

И.П. – инструментальная поправка спектрофотометра.

Параллельно с спектрофотометрированием испытуемого раствора измеряют оптическую плотность 0,004%-го раствора калия двуххромовокислого на спектрофотометре при длине волны 350 нм в кювете толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют 0,005 М раствор серной кислоты.

Инструментальную поправку (x₁) вычисляют по формуле

$$x_1 = 0,428 / D_1,$$

где 0,428 – табличное значение оптической плотности 0,004%-го раствора калия двуххромовокислого при 350 нм;

D₁ – оптическая плотность приготовленного раствора калия двуххромовокислого. (Волобуева В.Ф., Шатилова Т.И. Практикум по биохимии овощных, плодовых, ягодных, эфирноносных и лекарственных культур. М., 2008)

2.6. Определение массовой концентрации фенольных веществ в

экстрактах

Определение массовой концентрации фенольных веществ проводили колориметрическим методом (методом Фолина-Чокальтеу).

Метод основан на способности фенольных веществ восстанавливать фосфорно-вольфрамовую и фосфорно-молибденовую кислоты, входящие в состав реактива Фолина-Чокальтеу, до окислов вольфрама и молибдена, окрашенных в синий цвет, интенсивность окраски которого измеряют колориметрически.

В мерную колбу объемом 100 см^3 помещают 1 см^3 исследуемого образца, $15-20\text{ см}^3$ воды, 1 см^3 реактива Фолина-Чокальтеу, $15-20\text{ см}^3$ воды, 20 см^3 20%-ого раствора карбоната натрия, доводят до метки водой и через 30 минут измеряют оптическую плотность в кювете с расстоянием между рабочими гранями 10 мм при длине волны 670 нм против раствора сравнения, который готовят также, заменяя 1 см^3 исследуемого образца водой.

Массовую концентрацию фенольных веществ определяют с помощью калибровочного графика, построенного по стандартным растворам галловой кислоты. (Гержикова В.Г. Методы теххимического контроля в виноделии. Симферополь, 2009)

3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Обоснование выбора исходного сырья для получения экстракта из виноградных выжимок и косточек винограда

С целью подбора сырья, содержащего наибольшее количество биологически активных веществ, был проведен сравнительный биохимический анализ винограда *Vitis Vinifera* ранее изученного сорта Тайфи (диссер Бондакова), и местные сорта Кора жанжал, Кора гузал

Исследование проведено в соответствии с методиками, указанными в разделе «Материалы и методы».

Результаты исследований представлены в таблицах 2, 3,

Таблица 3.1 – Биохимические показатели кожицы винограда

Показатель	Кора жанжал	Кора гузал	Тайфи
СВ, %	23,0	21,0	28,0
Белок, мг/см ³	7,6	6,5	4,39
Общий азот, мг/см ³	1,21	1,23	1,35
Титруемая кислотность, %	8,3	8,4	7,20
Содержание гемицеллюлозы, %	5,00	4,00	5,00
Витамин С, мг/100г	5,00	4,00	4,00
Витамин Е	присутствует	присутствует	присутствует
Витамины группы В	присутствуют	присутствуют	присутствуют
Танины	присутствуют	присутствуют	присутствуют
Лигнин, %	0,20	0,10	0,20
РВ, %	6,0	4,0	4,0
Пектин, %	0,30	0,25	0,20
Флавоноиды, %	0,50	0,45	0,30
Антоцианы, %	0,70	1,00	0,46
Фенольные вещества в пересчете на галловую кислоту, мг/см ³	1,45	1,47	0,90

Биохимические показатели кожицы винограда

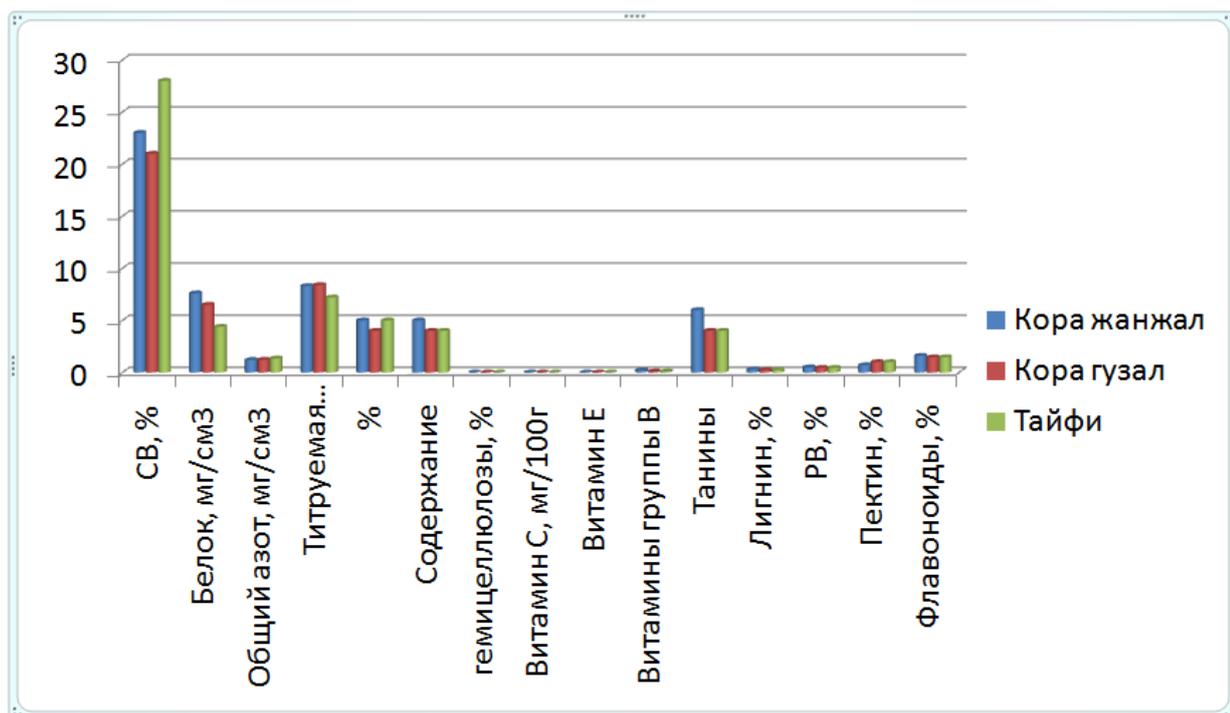


Рисунок 3.1. Биохимические показатели кожицы винограда

Таблица 3.2. – Биохимические показатели косточек винограда

Показатель	Кора жанжал	Кора гузал	Тайфи
СВ, %	54,2	57,7	55,4
Общий азот, мг/см ³	4,6	3,5	4,4
Белок, мг/см ³	25,3	20,4	27,2
Клетчатка, %	27,2	25,7	24,0
Гемицеллюлоза, %	10,6	9,8	10,2
РВ, %	Следы		
Витамин С, мг/100г	2,5	2,6	1,96
Дубильные вещества, %	6,6	4,7	5,2
Пектин, %	0,6	0,4	0,5
Лигнин, %	20,2	22,5	21,2
Флавоноиды, %	2,93	1,44	2,67
Антоцианы, %	0,83	0,52	0,63

Биохимические показатели косточек винограда

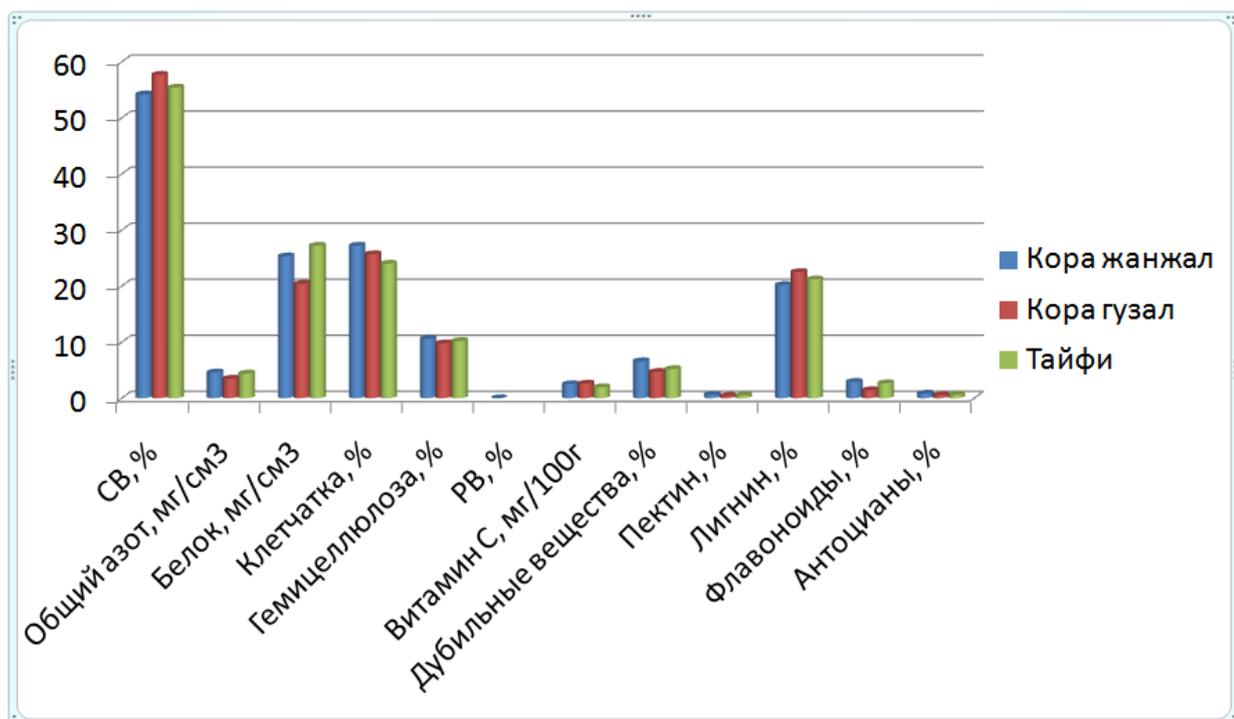


Рисунок 3.2. Биохимические показатели косточек винограда

Проведенные исследования показали, что наибольшее количество биологически активных веществ (полифенолы, витамины, органические кислоты) содержится в винограде *Vitis Vinifera* сорта Коражанжал. В основном биологически активные вещества сосредоточены в косточках ягод. На основании проведенного анализа наиболее подходящим сырьем для получения биологически активного экстракта был выбран виноград *Vitis Vinifera* сорта Коражанжал.

3.2. Исследование режимов и параметров экстракции суммарных полифенолов винограда из выжимки и виноградных семян

Большая часть суммарных полифенолов в виноделии «по-красному» и подавляющая их часть в виноделии «по-белому» остается в вторичных продуктах производства – выжимке.

В связи с этим одна из задач нашего исследования состояла в поиске оптимально го способа извлечения суммарных полифенолов из выжимки, сохраняющего анти оксидантную активность полифенолов на уровне не ниже, чем в вино материалах.

Для разработки технологии и получения биологически активных экстрактов было исследовано влияние и изменения следующих параметров экстракции на эффективность извлечения БАВ винограда:

- сушка сырья;
- подбор растворителя;
- температура экстракции;
- время экстракции;
- концентрирование

Эффективность извлечения БАВ контролировали по содержанию фенольных веществ в экстракте в пересчете на галловую кислоту.

Результаты исследования представлены в нижеследующих таблицах и графиках.

3.3. Исследование эффективности извлечения флавоноидов винограда различными экстрагентами

С целью определения наиболее эффективного экстрагента измельченное сырье заливали различными экстрагентами и проводили извлечение БАВ. В качестве экстрагентов были выбраны вода, этанол, пропиленгликоль, глицерин концентрированные и их водные растворы концентраций 30%, 50%, 70%. Полученные экстракты анализировали на содержание фенольных веществ.

Полученные результаты представлены в таблице 3 и на рисунке 3.

Проведенные исследования показали, что наиболее эффективным экстрагентом для кожицы винограда является концентрированный этанол, для косточек – вода.

Таблица 3.3– Результаты исследования эффективности извлечения

БАВ фенольной природы различными экстрагентами

Вмг/см³ галловой кислоты

Сырье	Вид экстрагента				
	Вода	Этанол, 30 %	Этанол, 50 %	Этанол, 70 %	Этанол, 95 %
Кожица	2,61	2,56	2,65	2,73	2,88
Косточки	2,75	2,47	2,35	2,29	2,15

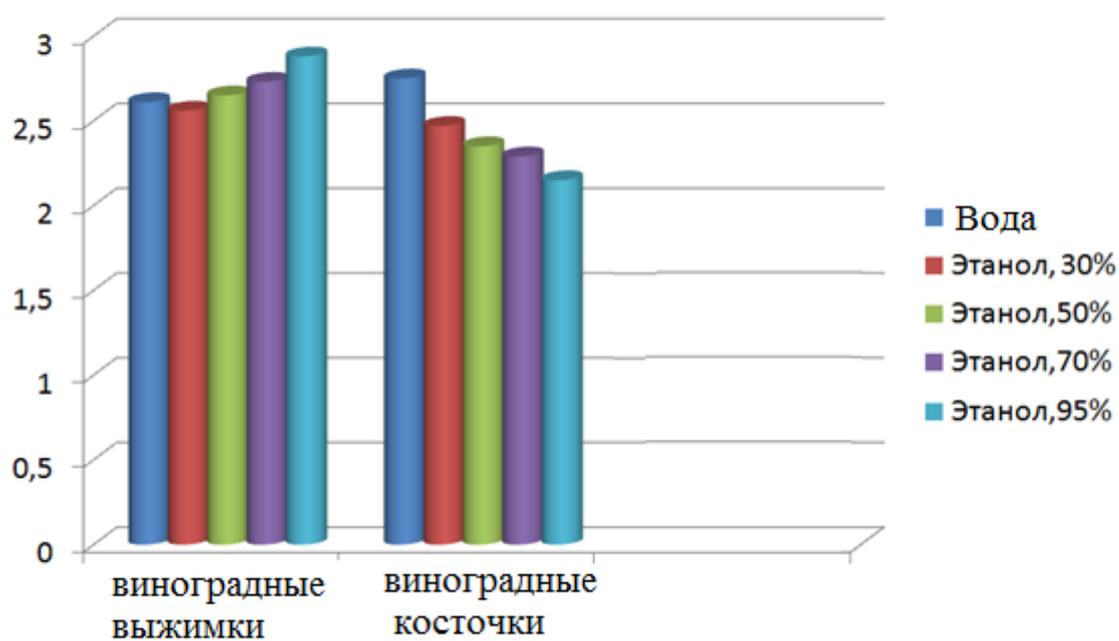


Рисунок 3.3. Зависимость эффективности извлечения БАВ фенольной природы от вида экстрагента

3.4. Исследование влияния продолжительности экстракции на

эффективность извлечения флавоноидов

С целью определения технологически обоснованной продолжительности процесса экстракцию проводили при комнатной температуре в течение 0,25, 0,5, 1, 2, 3 и 4 часов. В полученных извлечениях определяли содержание фенольных веществ.

Полученные результаты представлены в таблице 3.4 и на рисунке 3.4.

Таблица 3.4–

Результаты исследования зависимости эффективности извлечения флавоноидов фенольной природы от продолжительности экстракции
Вмг/см³ галловой кислоты

Сырье	Продолжительность экстракции, ч					
	0,2	0,5	1	2	3	4
Кожица	1,7	2,0	1,9	1,8	1,79	1,80
Косточки	1,7	1,8	2,0	2,4	2,47	2,46

* приведены результаты в виде средних значений, при этом величина доверительных интервалов средних арифметических значений измеряемых параметров составила 1,0-2,5% при уровне значимости 0,5.

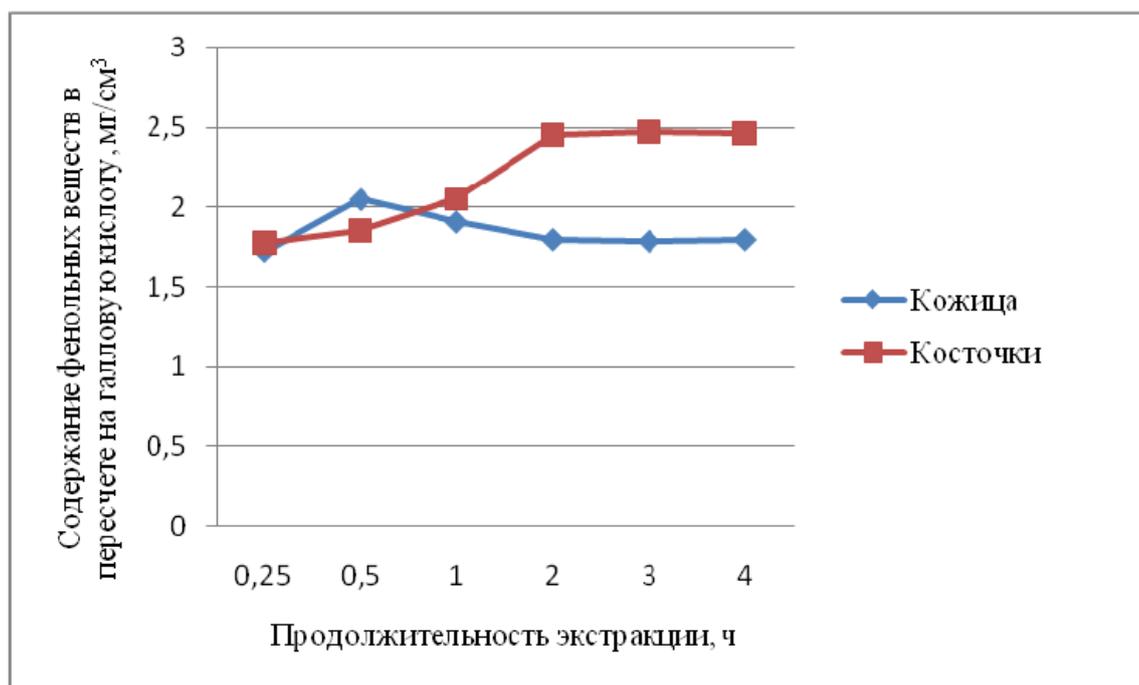


Рисунок 3.4.–Зависимость эффективности извлечения БАВ фенольной природы от продолжительности экстракции

Проведенный анализ показал, что технологически обоснованная продолжительность экстракции для кожицы винограда составляет 0,5 часа, для косточек – 2 часа, для цельных ягод винограда – 3 часа.

3.5. Исследование влияния температуры экстракции на эффективность извлечения флавоноидов

С целью определения оптимальной температуры экстракции проводились и в величинах гидромодуля и продолжительности процесса, при температуре 20 °С, 40 °С и 60 °С.

Эффективность извлечения БАВ контролировали по содержанию фенольных веществ.

Полученные результаты представлены в таблице 3.5 и на рисунке 3.5..

Таблица 3.5–

Результаты исследования зависимости эффективности извлечения БАВ фенольной природы от температуры экстракции*

В мг/см³ галловой кислоты

Сырье	Температура экстракции, °С		
	20 °С	40 °С	60 °С
Кожица	2,05	2,35	2,61
Косточки	2,45	2,68	2,75

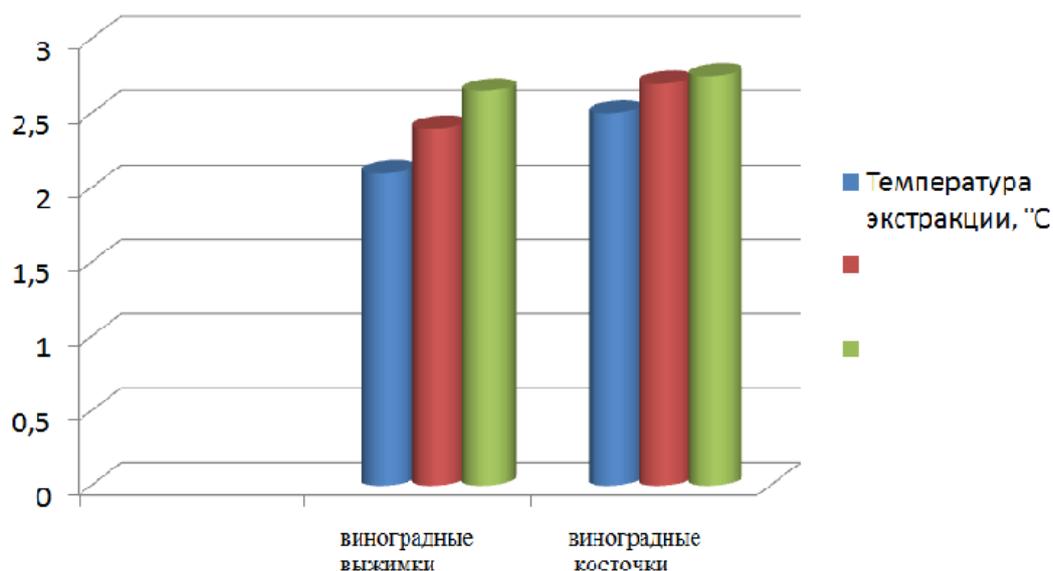


Рисунок 3.5.– Зависимость эффективности извлечения БАВ фенольной природы от температуры экстракции

Исходя из полученных результатов, можно сделать вывод, что технологически обоснованная температура экстракции для всех видов сырья составляет 60°C. Дальнейшее повышение температуры не способствует увеличению полноты экстракции, согласно литературным данным, вызывает разрушение биологически активных веществ (полифенолов, витаминов), и поэтому нецелесообразно.

3.6. Технологическая схема получения флавоноидов

Технологическая схема производства сухих экстрактов включает следующие стадии производства:

- 1) получение экстракта;
- 2) очистка экстракта;
- 3) сгущение экстракта;
- 4) высушивание сгущенного экстракта
- 5) Измельчение;
- 6) Фасовка и упаковка.

Получение экстракта. Измельченную сухую виноградную выжимку загружают экстрактор для непрерывное противоточное *экстрагирование*. Экстракционная установка работает непрерывно.

Сущность метода заключается в многократном экстрагировании материала чистым экстрагентом. В качестве экстрагента используют этиловый спирт (даже 60%) и ферментные растворы.

Одновременно в резервуар заливают небольшое количество экстрагента. По окончании настаивания из сборника спускают в экстрактор столько экстрагента, чтобы вытяжка достигла верхнего уровня петли сифона и начала переливаться в куб. Затем куб начинают обогревать.

Образующиеся пары экстрагента поднимаются в конденсатор (которым служит змеевиковый теплообменник), а из него в сборник.

Далее экстрагент поступает на сырье. Насыщенная вытяжка вновь поступает в куб. Циркуляция экстрагента проводится многократно до полного истощения сырья. Полученную вытяжку концентрируют отгонкой экстрагента в приемник. В кубе остается концентрированный раствор экстрактивных веществ.

Очистка экстракта. Очистку вытяжек проводят отстаиванием в течение нескольких суток при температуре не выше 10°C с последующим фильтрованием декантацией. В растительном материале, как правило, содержатся белки, полисахариды, ферменты, пектины, слизи и другие подобные вещества. При экстрагировании растительного материала водой или слабыми водноспиртовыми растворами кроме действующих веществ извлекаются и указанные балластные вещества, которые затем переходят в извлечение, а потом в экстракты. Такие экстракты оказываются нестойкими и некачественными, так как балластные вещества в них разлагаются и придают экстрактам нехарактерный запах, растворы таких экстрактов становятся мутными и не допускаются к применению. Поэтому из полученных экстрактов необходимо предварительно удалить балластные вещества. Для

этого существует несколько методов. В каждом отдельном случае, в зависимости от количества и свойств балластных веществ пользуются индивидуальным методом очистки.

Простейшим из них является отстаивание при $+8 \div 10^{\circ}\text{C}$ в течение 0,5-1 суток. Затем отстоявшуюся жидкость осторожно сливают с осадка, фильтруют или центрифугируют и выпаривают под вакуумом до требуемой консистенции.

Сгущение экстракта. Очищенные вытяжки упаривают при температуре $50 - 60^{\circ}\text{C}$ и разрежении 600 – 650 мм рт. ст. до требуемой консистенции. Наибольшее применение на этой стадии, как надежные в работе, высокоэффективные, удобные в обслуживании и малоэнергоёмкие, нашли такие конструкции, как прямоточный роторный, циркуляционный вакуум – выпарной аппарат и пенный испаритель.

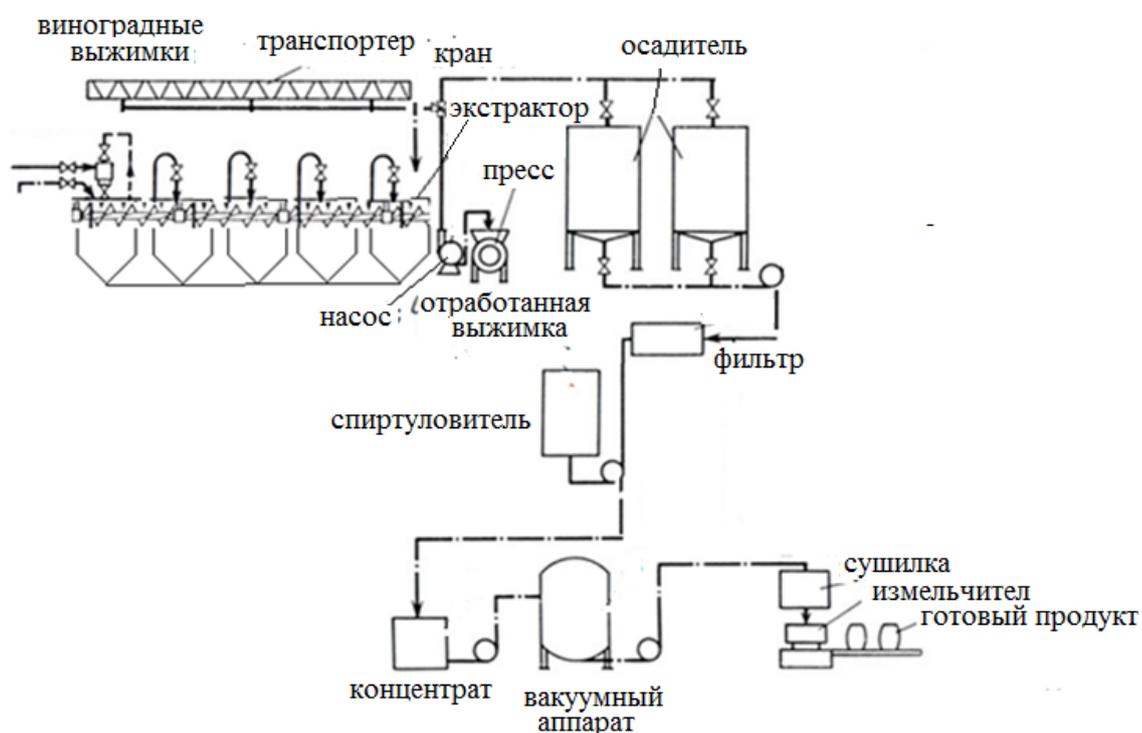


Рисунок 3.6. Технологическая схема получения флавоноидов из виноградной выжимки

Высушивание экстракта . Сгущенные вытяжки сушат в вакуум – сушильных шкафах при остаточном давлении 110 – 160 мм рт. ст. В результате получают очень рыхлую легкую массу в виде коржей, которые размалывают на шаровой мельнице.

ВЫВОДЫ

Флавоноиды исключительно многогранны. В равной мере они интересны как объекты изучения в ботанике, фармакогнозии, фитохимии и особенно в фармации и медицине.

В магистерской диссертационной работе флавоноиды главным образом изучены с точки зрения химических позиций. А именно рассмотрены особенности строения и физико-химические свойства биофлавоноидов, представлены современные методы идентификации, выделения и разделения флавоноидов.

1. При приготовлении экстракта из выжимков винограда наиболее значительно на химические свойства и антиоксидантные показатели влияют стадии сушки сырья, кроме того сушка позволяет увеличить сроки сырья, а также повысить содержание фенольных веществ флавоноидов;

2. На основании биохимического анализа различных частей (кожица, косточки) *Vitis Vinifera* трех сортов (Мускат, Коражанжал, Корагузал) обоснован выбор винограда *Vitis Vinifera* сорта Корагузал в качестве сырья для получения экстрактов. Выявлено, органических кислот – в кожице, полифенолов – в кожице и косточках данного сорта винограда.

3. Теоретически обоснованы и установлены параметры экстракции флавоноидов из вторичного виноградного сырья: предварительная обработка сырья при температуре 50-52 °С, экстрагент 40 % C_2H_5OH , температура экстракции 70 °С, продолжительность экстракции 30 минут

4. Разработана технология и экспериментальная аппаратурно-технологическая схема для производства флавоноидов из выжимок винограда с повышенными антиоксидантными свойствами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдулин, Е.Н. Турова, Г.К. Будников // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2001. – Т.167. № 6. – С.3-13.
2. Аверьянова Е.В. и др. Физиологически активные вещества растительного сырья. Бийск, 2010
3. Анцышкина, А.М. О фармакологической активности препаратов боярышника / А.М. Анцышкина, Е.И. Барабанов, И.А. Самылина, Н.В. Каверина. // Фармация. - 1990. - №2. - С. 63-65.
4. Барабой В. А. Биологическое действие растительных фенольных соединений. — К.: Наук. думка, 1976. — 260с.
5. Басий Н.А. Сравнительная характеристика виноградных семян как источника растительного масла / Н.А. Басий, В.И. Мартовщук, Е.В. Мартовщук, М.С. Дударев, Е.А. Чакерьян // Известия вузов. Пищевая технология. - 2003. - № 5-6. - С. 23-24.
6. Басий Н.А. Консистентные свойства шоколадных изделий с добавлением измельченных ядер виноградных семян / Н.А. Басий, В.И. Мартовщук, Е.В. Мартовщук, Т.Ю. Шапкун, Ю.Н. Азаров, Ю.С. Гажва // Известия ВУЗов. Пищевая технология. - 2005. - № 1. - С. 51-53.
7. Биологическая активность продуктов переработки винограда сортов новой селекции / Авидзба А.М., Огай Ю.А., Катрич Л.И. и др. // Виноградарство и виноделие. – М.: – 2007. – № 6. – С. 26-29.
8. Блажей, А. Фенольные соединения растительного происхождения: пер. с словацкого. М.: Мир, 1977. 239с
9. Блажей А. Фенольные соединения растительного происхождения / А. Блажей, Л. Шутый. – М.: Мир, 1997. – 239 с.
10. Блажей А.С., Шутый Л.П. Фенольные соединения растительного происхождения. – М.: Мир, 1997.
11. Большанов, Г.Б. Вина виноградные: учеб. пособие для студентов обуч.

по спец. «Товароведение и экспертиза товаров» / Г.Б. Большанов – Челябинск: Изд-во ЮУрГУ, 2003. – 51 с.

12. Владимирова Ю.А. Свободные радикалы в живых системах Биофизика. Итоги науки и техники / Ю.А. Владимирова и др. – М.: ВИНТИ АН, 1991. – 252 с.

13. Воробьева Т.Н. Приготовление натурального эликсира из виноградного сырья / Т.Н. Воробьева, А.Т. Киян, О.Н. Малахов, А.Н. Макеева, Галущенко В.Т. Виноград / В.Т. Галущенко, Ю.С. Березовский. – М.: АСТ; Донецк: Сталкер, 2008. – 108 с.

14. Гапенко Ю.В., Зайко Г.М., Агеева Н.М., Марковский М.Г. Изменение процианидинового комплекса виноградной выжимки при кулинарной обработке / Ю.В. Гапенко, Г.М. Зайко, Н.М. Агеева, М.Г. Марковский // Известия вузов. Пищевая технология - 2004. - № 2-3. - С. 39-40.

15. Георгиевский В.П. и др. Биологически активные вещества лекарственных растений. М., 1990. 336 с

16. Дудкин М. Хлебобулочные изделия специального назначения / М. Дудкин, М. Козлов, Е. Данилова, Л. Щелкунов, Т. Сагайдак, Т. Качан, С. Решта, Зенков Н.К. и др. Фенольные биоантиоксиданты. Новосибирск, 2003

17. Запрометов М. Н. Фенольные соединения. — М.: Наука, 1993. — 272 с.

18. Иванов Л.В. // Хим.-фармацевт. журн. 1992. №2. С. 20-23

19. Известия вузов. Пищевая технология. - 2003. - № 4. - С. 116-117

20. Истригова Т.А. Пищевая ценность хлебобулочных изделий с добавками из винограда / Т.А. Истригова, М.М. Салманов, Н.М. Мусаева // Хлебопечение России. - 2010. - №6. - С. 20-22, 44.

21. Каверина Н.В. Изучение специфической антиаритмической активности препаратов боярышника / Н.В. Каверина, З.П. Сеннова, И.А. Самылина [идр.] // Фармация. - 1988. - №6. - С. 33-36.

22. Казаков А.Л., Хацуков Б.Х. Биологически активные вещества целебных и пищевых растений и их фармакологическая активность. - Нальчик: Изд. КБНЦ РАН, 2000. - 68 с.

23. Корулькин Д.Ю. Природные флавоноиды. Новосибирск, 2007
24. Корулькин Д.Ю. Природные флавоноиды. Новосибирск: Академическое изд-во «Гео», 2007. 232 с
25. Корулькин, Д.Ю. Природные флавоноиды /Д.Ю. Корулькин, Ж.А. Абилов, Г.А. Толстикова. – Новосибирск: Наука, 2007. – 296 с.
26. Корулькин, Д.Ю. Природные флавоноиды /Д.Ю. Корулькин, Ж.А. Абилов, Р.А. Музычкина, Г.А. Толстикова // Новосибирск: Академ. изд-во
27. Куркин, В.А. Антиоксидантная активность некоторых тонизирующих гепатопротекторных фитопрепаратов, содержащих флавоноиды и фенолпропаноиды /В.А. Куркин, О.Л. Кулагин, Н.С. Додонови [др.] // Растительные ресурсы. – 2008. – Т. 44, вып. 1. – С. 122-129.
28. Либберт Э. В. Физиология растений / Э.В. Либберт – М.: Мир, 1976. 231 - 269 - 271 с.
29. Макарова М.Н., Макаров В.Г., Зенкевич И.Г. Изучение антирадикальной активности индивидуальных флавоноидов и их комбинаций с другими антиоксидантами в опытах *in vitro*. Материалы VII Международного съезда Фитофарм 2003 "Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения", СПб-Пушкин, 3-5 июля 2003 г., с 216-222.
30. Моргунова Е.М. Слабоалкогольные напитки на основе натурального виноградного сырья и пряно-ароматических компонентов /Е.М. Моргунова, Н.А. Дайнеко // Пиво и напитки. -2006. -№ 4. -С. 36-38, 126.
31. Пахомов А.Н. Экспериментальное обоснование создания функциональных пищевых продуктов и БАД на основе растительного сырья / А.Н. Пахомов, О.В. Ясюк, Ю.И. Марковский, П.Г. Рудась, В.И. Мартовщук // Известия вузов. Пищевая технология. -2006. -№ 2-3. -С. 15-18.
32. Покровский А.А. Химический состав пищевых продуктов. Справочные таблицы содержания основных пищевых веществ и энергетической ценности пищевых продуктов / Подред. А.А. Покровского. -М.: Пищевая

промышленность, 1977.-227с.

33.Рогинский,В.А.Фенольныеантиоксиданты/В.А.Рогинский//М.:Ме-
дицина,1988.– 247с.

34.СеменовА.А.Очеркхимииприродныхсоединений.Новосибирск, 2000

35.Сирота Т.В. Способ определения антиоксидантной активности
супероксиддисмутазы и химических соединений. Заявка № 99103192
(003673), приоритет от 24.02.1999.

36.Тараховский,Ю.С.Флавоноиды:биохимия,биофизика,медицина /Ю.С.
Тараховский,Ю.А.Ким,Б.С.Абдрасилов,Е.Н.Музафаров.-Пушино:
Synchrobook,2013.– 310с.

37.ХушбактоваЗ.А.// Химияприрод.соединений.1995.С.350-356

38. ШаззоА.Ю.Исследованиехимическогогосостававиноградныхсемянс
цельюиспользованияихвкачествекормовойдобавки/А.Ю.Шаззо,В.И.
Мартовщук,Н.Н.Корнен,В.В.Илларионова//Известиявузов.Пищевая
технология. -2002. -№ 1.-С. 38-39.

39. BouqzizM.//Phytochemistry.2002.V.60.P.515-520

40. ChoiY.-S.Optimizationofreplacingporkbackfatwithgrapeseedoiland
ricebranfiberforreduced-fatmeatemulsionsystems/Y.-S.Choi,J.-H.Choi,D.-J.
Han,H.-Y.Kim,M.-A.Lee,H.-W.Kim,J.-W.Lee,H.-J.Chung,C.-J.Kim//Meat
Science.-2010. - V.84,№ 1. -P. 212-218

41. FalchiM.Comparisonofcardioprotectiveabilitiesbetweenthefleshand
skinofgrapes/M.Falchi,A.Bertelli,R.LoScalzo,M.Morassut,R.Morelli,Das
Samarjit,CuiJianhua,K.DasDipak//JournalofAgriculturalandFoodChemistry.-
2006.– V.54,№ 18.-P.6613-6622.

42. FatopeM.O.,OlajideO.A.,MakindeJ.M., Awe S.O.// Phytochemistry.
2003.V.62(8). P.1251-1254

43. HuangI.-L., Jeh P.-I., Shen ce,Chen ce// Phytochemistry.
2003.V.64(7). P.1277-1279

44. Lokvam

- J., Coley P. D., Kursar T. A. // *Phytochemistry*. 2004. V. 65(3). P. 351-358;
45. *Elegans*
A. A., Bates C., Gray A. I. // *Phytochemistry*. 2003. V. 63(6). P. 727-730;
46. Mazza G. // *CRC. Cri. Rev. Food Sci. Nutr.* — 1995. V. 35. — P. 341-371.
47. *Meat Science*. -2011. -V. 88, №1. - P. 179-183.
48. Meyer A. S., Jepsen S. M., Sorensen N. S. // *J. Agric. Food Chem.*
49. Micard V., Renard C. M. G. C., Thibaut J. F. // *Lebensm. — Wiss. Technol.* — 1994. — V. 27. — P. 59-66.
50. *Natural Antioxidants-Chemistry, Health Effects and Applications*, ed F. Shanidi, AOCS Press. Champaign, 1997, ch. 24.
51. Qiu F. Biodiesel production from mixed soybean oil and rapeseed oil / F. Qiu, Y. Li, D. Yang, X. Li, P. Sun // *Applied Energy*. -2011. - V. 88, № 6. - P. 2050- 2055.
52. Qiu F. Biodiesel production from mixed soybean oil and rapeseed oil / F. Qiu, Y. Li, D. Yang, X. Li, P. Sun // *Applied Energy*. -2011. - V. 88, № 6. - P. 2050- 2055.
53. Sánchez-Alonso I. Effect of grape antioxidant dietary fibre on the prevention of lipid oxidation in minced fish: Evaluation by different methodologies / Sánchez-Alonso, A. Jiménez-Escrig, F. Saura-Calixto, A. Borderías // *Food Chemistry*. -2007. - V. 101, № 1. - P. 372-378.
54. Schmid J., Adam G., Merzweiler K., Brandt W., Wagner C // *Tetrahedron*. 2000. N6. P. 865-872.; Whiting D. A. // *Nat. Prod. Rep.* 2001. N6. P. 583-606
55. Wang, X. A highly sensitive and robust UPLC-MS method for quantitation of taxifolin in rat plasma / X. Wang [et al.] // *J. Chromatogr. B Analit. Technol. Biomed. Life Sci* -2009. -877. - P. 1778-1786
56. Yenesew A., Jrungu B., Daese S., Midiwo J. O., Heydenreich M., Peter M. C. // *Phytochemistry*. 2003. V. 63(4). P. 445-448
57. Man H. H., Bishoff F. A., Bochum B. S., Kroonig G. F. //

Phytochemistry.2002.N6.P.487-491

58. Özvural E.B. Grape seed flour is a viable ingredient to improve the nutritional profile and reduce lipid oxidation of frankfurters / E.B. Özvural, H. Vural / Özvural E.B. Grape seed flour is a viable ingredient to improve the nutritional profile and reduce lipid oxidation of frankfurters / E.B. Özvural, H. Vural
www.antioxidant-of-food.bessmertie.ru
www.xumuk.ru/ Антоцианы – химическая энциклопедия