

УДК 663.2:574

**СОВРЕМЕННЫЙ МЕТОД  
КОНТРОЛЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ  
БЕЗОПАСНОСТИ  
ВИНОДЕЛЬЧЕСКОЙ ПРОДУКЦИИ**

Гугучкина Татьяна Ивановна  
д-р с.-х. наук  
Гонтарева Елена Николаевна  
канд. техн. наук  
Антоненко Михаил Викторович  
канд. техн. наук

*Государственное научное учреждение  
Северо-Кавказский зональный научно-  
исследовательский институт  
садоводства и виноградарства  
Россельхозакадемии, Краснодар, Россия*

Подобраны необходимые условия определения массовых концентраций охратоксина А, патулина и пестицидов химического класса триазолов в вине и виноматериалах методом капиллярного электрофореза для контроля экологической безопасности продукции.

*Ключевые слова:* ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ, ВИНО, ПЕСТИЦИДЫ, МИКОТОКСИНЫ, КАПИЛЛЯРНЫЙ ЭЛЕКТРОФОРЕЗ

UDC 663.2:574

**THE MODERN METHOD OF  
ECOLOGICAL SAFETY CONTROL OF  
WINE PRODUCTION**

Guguchkina Tatiana  
Dr. Sci. Agr.  
Gontareva Elena  
Cand. Tech. Sci.  
Antonenko Mihail  
Cand. Tech. Sci.

*State Scientific Organization North  
Caucasian Regional Research Institute of  
Horticulture and Viticulture of the Russian  
Academy of Agricultural Sciences,  
Krasnodar, Russia*

The necessary conditions of determination of mass concentration ochratoxin A, patulin and pesticides of triazole chemical class in wine and winestocks by a capillary electrophoresis method for control of ecological safety production are selected.

*Keywords:* ECOLOGICAL SAFETY, WINE, PESTICIDES, MYCOTOXINS, CAPILLARY ELECTROPHORESIS

**Введение.** Вопросы экологии виноделия стали обсуждаться в конце XX века с появлением первых публикаций о присутствии остаточных количеств пестицидов и микотоксинов в винограде и продуктах его переработки. К числу актуальных проблем современного виноделия относится получение экологически безопасной винодельческой продукции, обладающей высокими пищевыми, диетическими и лечебно-профилактическими свойствами.

Как известно, виноградное растение подвергается различным грибным заболеваниям, поэтому его многократно обрабатывают химическими средствами защиты. Виноград накапливает остаточные количества микотоксинов (охратоксин А и патулин) и пестицидов, среди них обнаруживаются остатки триазолов (системных фунгицидов), которые обладают мутагенными, канцерогенными, тератогенными и другими опасными для человеческого организма свойствами [1].

Методы анализа микотоксинов, как и остаточных количеств пестицидов, достаточно сложные. Применяется в основном тонкослойная газожидкостная хроматография (ГЖХ) и высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Эти методы длительны, трудоемки и требуют больших затрат.

В последние десятилетия в мире отмечено активное стремление к использованию нового, интенсивно развивающегося метода разделения сложных смесей – капиллярного электрофореза, позволяющего анализировать ионные и нейтральные компоненты различной природы с высокой экспрессностью и уникальной эффективностью [2].

Простота и доступность этого метода, а также неоспоримые преимущества, которые он даёт при выполнении измерений, позволяют надеяться на динамичное развитие методического обеспечения и скорейшее включение капиллярного электрофореза в перечень физико-химических методов анализа, наиболее часто применяемых в повседневной лабораторной практике. Поэтому разработка более современного метода определения микотоксинов и пестицидов в винопродукции с помощью капиллярного электрофореза актуальна и получает все большее признание в странах Евросоюза и России.

Нами проведена исследовательская работа по выявлению возможности использования в аналитической практике определения охратоксина А, патулина, пестицидов группы триазолов – пенконазала, флутриафола,

триадименола и тебуконазола в виноградных винах и виноматериалах с помощью метода капиллярного электрофореза.

**Объекты и методы исследований.** Объектами исследований служили белые и красные вина и виноматериалы. В ряде экспериментов использовали модельные растворы: вина, в которые вносились стандартные растворы микотоксинов – охратоксина А, патулина и препараты триазольной группы – пенконазол, флутриафол, тебуконазол, триадименол.

Для определения этих токсичных веществ в СКЗНИИСиВ использовали метод капиллярного электрофореза, реализуемый на приборе «Капель-105» [2].

**Обсуждение результатов.** Разработка методики определения микотоксинов. В ходе исследований экспериментальным путем подобраны необходимые условия для определения массовой концентрации охратоксина А в вине и виноматериалах методом капиллярного электрофореза: буферный раствор, длина волны спектрофотометрического детектора, напряжение, дозирование пробы – пневматическое при 30 мБар; время анализа 12 мин, температура термостатирования капилляра 25 °С.

Для пробоподготовки использовали различные патроны, производили добавки в вино, использовали различные растворители, которые в результате не дали полной экстракции охратоксина А.

Наилучшие результаты по экстракции микотоксина показал хлористый метилен. Выявлено, что пик стандартного раствора охратоксина А выходит на 9 минуте (рис. 1).

На рисунке 2 показано, как выглядит электрофореграмма сухого белого вина с остаточным количеством охратоксина А.

Метод определения охратоксина А прошел апробацию в «Люмекс-центр» (г. Москва) и имеет положительное заключение по его применению в испытательных центрах, оснащенных прибором «Капель 105».

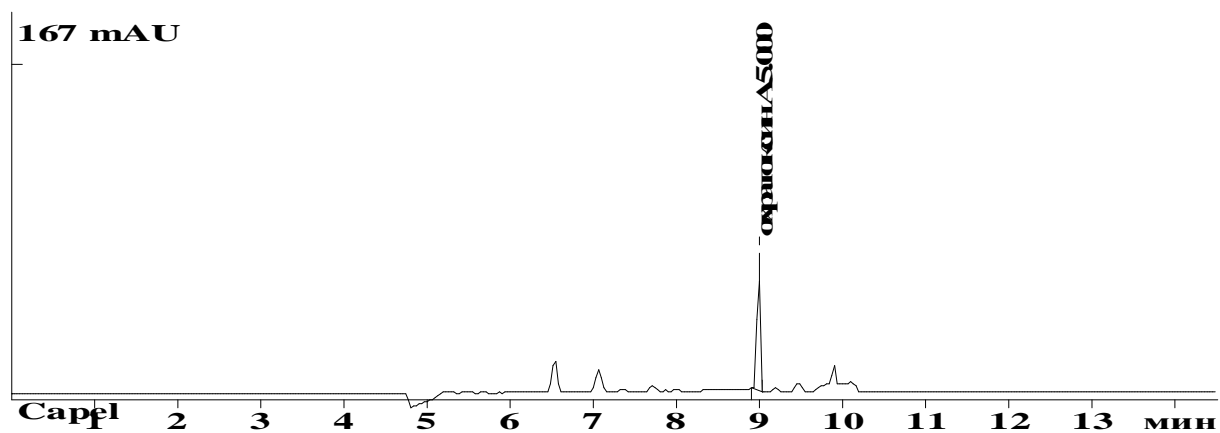


Рис. 1. Электрофореграмма № 1. Стандартный раствор, 50 мкг/см<sup>3</sup>.

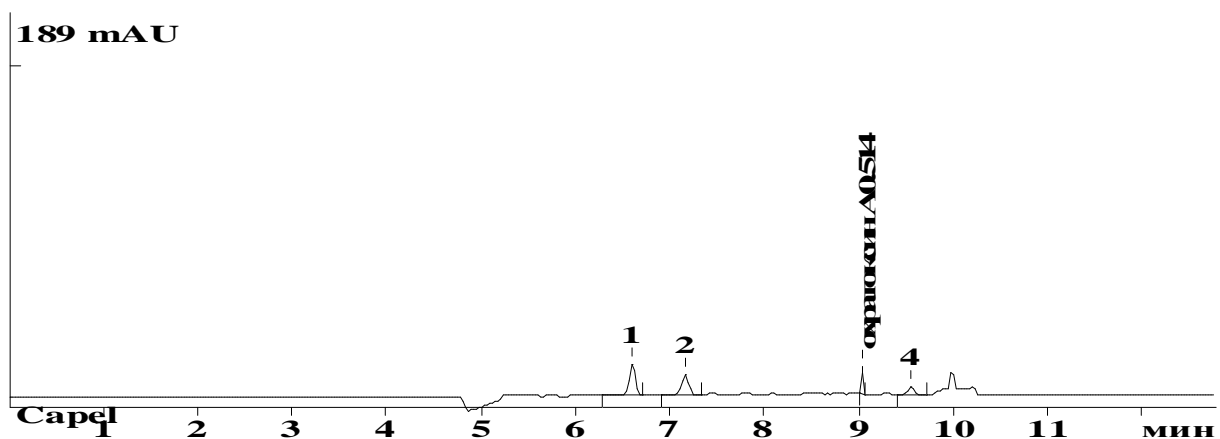


Рис. 2. Электрофореграмма № 2. Образец винопродукции.

Так же экспериментальным путем подбирались необходимые условия (буферный раствор, температура, длина волны, напряжение, время анализа), при которых методом капиллярного электрофореза определялась наиболее оптимальная массовая концентрация патулина в продуктах переработки винограда.

В ходе исследований проведены работы по оптимизации пробоподготовки яблочного вина с использованием различных патронов, добавок, растворителей, которые бы дали положительные результаты по определению патулина и сокращению времени анализа.

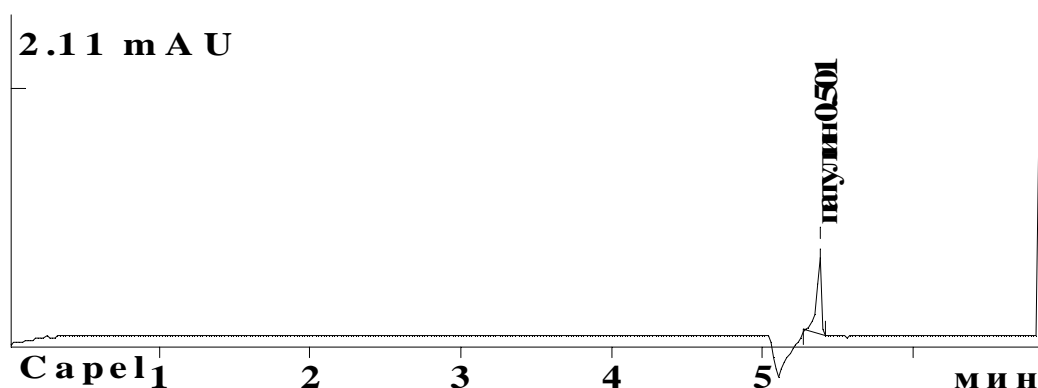


Рис. 3. Электрофореграмма № 3. Стандартный раствор патулина.

Проведенный анализ показал, что пик стандартного раствора патулина выходит на 5-й минуте (рис. 3).

*Разработка методики определения триазолов.* В основе определения триазолов методом капиллярного электрофореза (КЭ) лежат три критерия: электроосмотический поток, нейтральный заряд триазольных групп и комплексообразование с поверхностно-активным веществом, которое формирует псевдостационарную мицеллярную фазу [4].

Такой метод, предложенный Терабе в 1984 году, называется мицеллярной электрокинетической капиллярной хроматографией (МЭКХ). Он основан на комбинации электрофоретического и хроматографического принципов разделения и позволяет разделять незаряженные компоненты пробы за счет различной вероятности нахождения их в водной подвижной и псевдостационарной фазах [2].

Для реализации режима МЭКХ при анализе триазолов в качестве добавки к буферу нами был использован анионный детергент додецилсульфат натрия. Получаемые мицеллы несут гидрофобный характер внутри и имеют отрицательный заряд снаружи, чем и достигается электрофоретическая подвижность триазолов в электрическом поле.

Получаемое разделение нейтральных компонентов пробы основано на их различном распределении между буферным раствором и внутренней частью мицелл согласно их гидрофобности. Вследствие того, что молекулы пробы взаимодействуют с псевдостационарной фазой, точность метода МЭКХ соответствует точности обычного хроматографического метода [5].

МЭКХ предложена нами для количественного определения триазолов в вине как альтернатива газовой хроматографии. Результаты, полученные при анализе различных вин капиллярным электрофорезом, хорошо коррелировали с теми, что были получены стандартной газовой хроматографией. Кроме того, метод МЭКХ показал хорошую чувствительность, точность и воспроизводимость, сокращал время пробоподготовки, анализа и расход высокочистых реактивов.

В рамках настоящей работы впервые в России изучались возможности быстрого и эффективного определения фунгицидов последних поколений триазольного химического класса на уровне следовых количеств методом капиллярного электрофореза в соке ягод винограда и виноматериалах на приборе капиллярного электрофореза «Капель-105» в связи с тем, что действующая методика их определения методом газожидкостной хроматографии трудоёмка и длительна. Разделение всех триазолов происходило от 15 до 18 минут (рис. 4). Регистрация и идентификация интересующих веществ происходит по времени удерживания или методом добавки. Возможно появление посторонних неизвестных пиков, что не мешало разметке триазолов. Погрешность анализа составила 6-12%.

В виноградных соках и винах с помощью капиллярного электрофореза определяли триазолы на уровнях предельно допустимых концентраций (МДУ), то есть таких, с которыми обычно сталкиваются в исследуемых природных образцах.

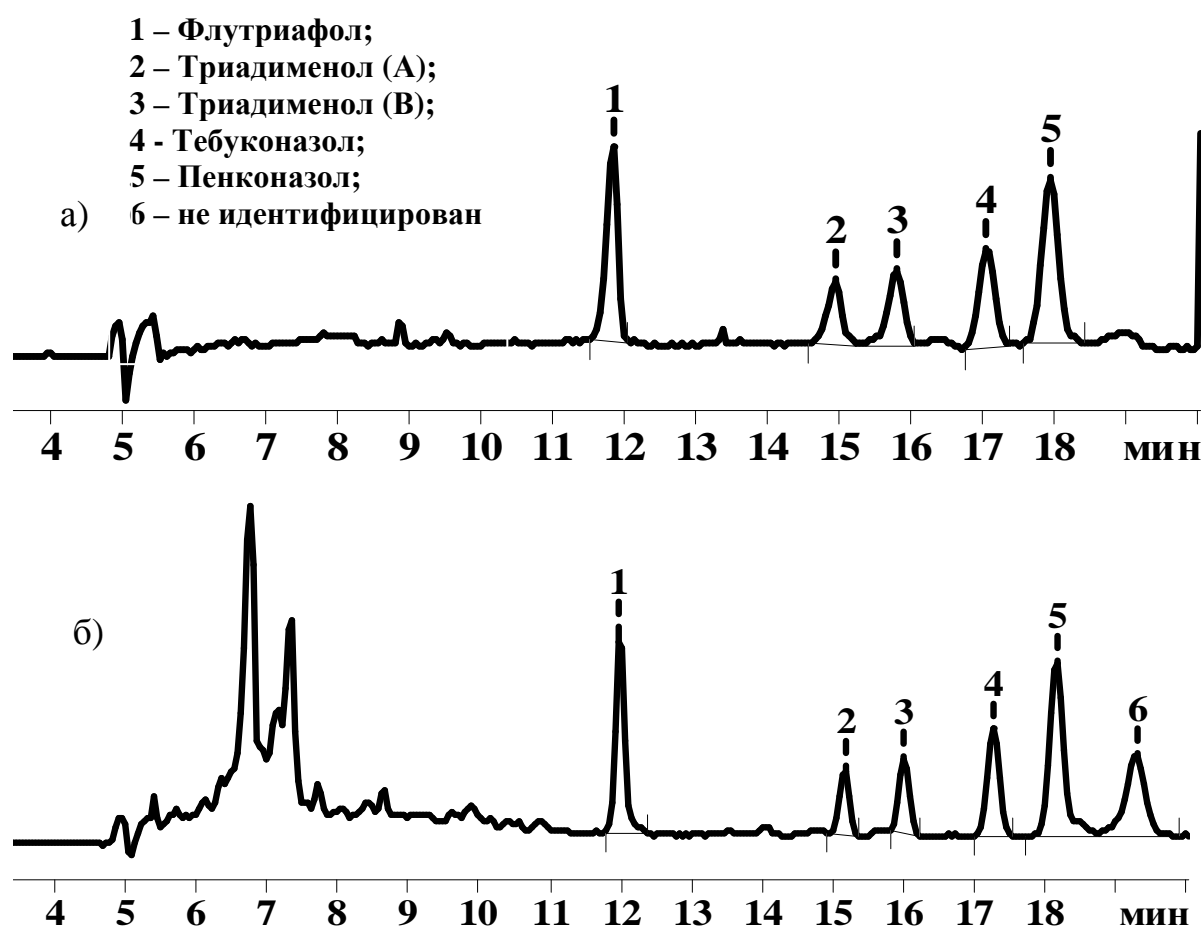


Рис. 4. Фрагмент электрофореграмм стандартного раствора триазолов (а) и образца винопродукции с добавкой стандартного раствора триазолов (б)

Показана возможность применения капиллярного электрофореза для прямого определения пестицидов триазольного химического класса в продуктах виноделия [3, 6]. Полученные калибровки показывают хорошую линейность в диапазонах концентрации 1-10 мг/дм<sup>3</sup> для триазолов.

При предварительной концентрации пробы предел обнаружения фунгицидов составил 0,01 мг/дм<sup>3</sup>.

Из ограничений КЭ следует отметить невысокую, по сравнению с ВЭЖХ, концентрационную чувствительность и требование к анализируемым соединениям растворяться в воде и разбавленных водно-органических смесях. Однако, эти ограничения являются преодолимыми.

Нами установлено, что недостаточную чувствительность определения при использовании УФ-детектирования (из-за малой длины оптического пути, равного внутреннему диаметру капилляра) можно компенсировать использованием различных приемов on-line концентрирования пробы (например, стэкинг и свиппинг).

Изучение и использование метода капиллярного электрофореза открывает огромные перспективы его широкого внедрения в различные направления аналитических исследований, включая экологический, санитарный и технологический контроль.

Преимущество капиллярного электрофореза при определении микотоксинов и микроколичеств триазолов заключается в высокой эффективности разделения компонентов, малых объемах анализируемой пробы и буферного раствора, экспрессности анализа, в повышении безопасности аналитика за счет уменьшения расхода высокочистых токсичных растворителей, в отсутствии дорогостоящих хроматографических колонок, насосов, необходимых для ВЭЖХ, и в упрощенной пробоподготовке вина и виноматериалов для анализа, по сравнению с ГЖХ, ВЭЖХ и ТСХ.

Сравнительные испытания и техническая апробация разработанной методики определения триазолов проведены в Научно-исследовательском институте прикладной и экспериментальной экологии Кубанского государственного аграрного университета. В протоколе испытаний отмечена прецизионность методики, ее экспрессность.



Социально-экономический эффект при использовании новой методики определения остаточных количеств триазолов в сравнении с методом газовой хроматографии составил 15,5 тыс. руб. на 100 образцов вин.

**Выводы.** Проведенные исследования позволили разработать более современный и точный метод обнаружения микотоксинов и триазолов.

Подготовлены проекты национальных стандартов, введение в действие которых позволит проводить эффективный мониторинг токсичных соединений в винах российского и импортного производства.

Разработан проект национального стандарта «Продукция винодельческая. Определение массовой концентрации пестицидов группы триазолов методом капиллярного электрофореза в сочетании с твердофазной экстракцией», который утвержден в установленном порядке в Ростехрегулировании РФ. Вступление в действие ГОСТ Р намечено на 2011 год.

Разработчикам «Технического регламента» на вино научным центром виноделия ГНУ СКЗНИИСиВ Россельхозакадемии внесены предложения об ограничении количественного состава охратоксина А в вине – не более 2 мкг/дм<sup>3</sup>, патулина – не более 0,05 мг/дм<sup>3</sup> и пестицидов группы триазолов, с тем чтобы усилить контроль за безопасностью на винодельческом рынке Российской Федерации.

Разработанные методики определения микотоксинов и триазолов будут востребованы на винодельческих предприятиях России и в лабораториях, занимающихся экотоксикологическим мониторингом для получения готовой продукции с повышенной конкурентоспособностью, экологической и потребительской безопасностью.

Представленные проекты согласуются с экологической доктриной РФ, основными приоритетами которой являются: улучшение качества жизни, здоровья и увеличение продолжительности жизни населения путём снижения неблагоприятного воздействия экологических факторов.

## Литература

- 1 Кретьова, Л.Г. Микотоксины. Загрязнение продукции и аналитический контроль. Методическое пособие/ Л.Г. Кретьова, М.И. Лунев // Москва ГУП Агропрогресс, 2000.– 80 с.
- 2 Комарова, Н.В. Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза «КАПЕЛЬ»/ Н.В. Комарова, Я.С. Каменцев.– СПб: ООО «Веда», 2006. – 212 с.
- 3 Гугучкина, Т.И. Качество виноградного сырья и экологическая безопасность винодельческой продукции / Т.И. Гугучкина, Е.Н. Якименко, М.Г. Марковский [и др.] // Виноделие и виноградарство.– 2009. – №1. – С. 5.
- 4 Ravelo-Perez, L.M. Multiple pesticide analysis in wine by МЕКС combined with solid-phase microextraction and sample stacking / L.M. Ravelo-Perez, J. Hernandez-Borges, T.M. Borges-Miquel et al. // Electrophoresis.– 2007. – 28. – P. 4072–4081.
- 5 Руководство по методам анализа качества и безопасности продуктов / Под ред. И.М. Скурихина, В.А. Путьельно. – М.: Брадес, Медицина. – 1998.– 342 с.
- 6 Марковский, М.Г. Быстрое определение триазольных пестицидов в продуктах виноделия методом капиллярного электрофореза / М.Г. Марковский, М.В. Антоненко // Оптимальные технологические-экономические параметры биолого-технологических систем: Сб. матер. по основным итогам науч. исследований за 2007 год. – Краснодар: Изд-во ГНУ СКЗНИИСиВ, 2008. – С. 358-360.