



УДК 543.544.5:544.723.23

Определение антоцианов винограда в условиях обращенно-фазовой ВЭЖХ

© 2021 Дейнека В.И.¹, Макаревич С.Л.², Блинова И.П.¹,
Олейниц Е.Ю.¹, Дейнека Л.А.¹

¹Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород

²Белгородская межобластная ветеринарная лаборатория, Белгород

Поступила в редакцию 01.09.2021 г.

DOI: 10.17308/sorpchrom.2021.21/3771

Разработан простой вариант градиентного разделения всех 3-глюкозидов и 3,5-диглюкозидов пяти основных антоцианидинов (дельфинидина, цианидина, петунидина, пеонидина и мальвидина), характеризующих биосинтез антоцианов в плодах различных сортов винограда вида *Vitis vinifera* (первая группа), а также в других видах винограда (Североамериканского или Дальневосточного происхождения) и в их гибридах. Для разделения использована ВЭЖХ со стационарной фазой Symmetry C18 и элюентами, составленными из 10 об.% муравьиной кислоты и двух различных составов по ацетонитрилу 6 об.% и 20/30 об.% в воде. Межвидовые гибриды отличаются появлением в экстрактах кроме 3-глюкозидов 3,5-диглюкозидов. Как 3-глюкозиды, так и 3,5-диглюкозиды легко разделяются в условиях обращенно-фазовой хроматографии, и проблема разделения возникает только при их совместном присутствии, особенно это касается пары: петунидин-3-глюкозид и мальвидин-3,5-диглюкозид. Для решения задачи разделения указанных антоцианов при совместном присутствии были определены энтальпии переноса этих антоцианов с подвижной фазы на стационарную. При этом было экспериментально установлено, что все процессы сорбции экзотермические, при этом энтальпия переноса для 3-глюкозидов и 3,5-диглюкозидов различна - уменьшается по абсолютной величине при добавлении глюкозидного радикала в положение 5. При этом различие этого параметра для петунидин-3-глюкозида и мальвидин-3,5-диглюкозида позволяет изменять селективность разделения аналитов за счет увеличения температуры разделения с 40 до 55°C. Это позволяет выполнить исследование сортов винограда и вин на содержание маркеров скрещивания винограда и видами, не относящимися к *Vitis vinifera*. В работе на примере ряда вин, приобретенных в супермаркете, изготовленных из виноградов *Vitis vinifera* сорта Каберне или Каберне Совиньон, было установлено, что в исследованных винах, произведенных в Чили и во Франции, 3,5-диглюкозидов нет. Это указывает на использование только виноградов *Vitis vinifera* при их производстве. Однако во всех исследованных в работе винах, произведенных в России, содержание 3,5-диглюкозидов оказалось значительным, указывая на использование при производстве гибридных сортов винограда (типа популярного в России сорта Молдова).

Ключевые слова: обращенно-фазовая ВЭЖХ, разделение антоцианов, влияние температуры, антоцианы плодов виноградов, 3-глюкозиды, 3,5-диглюкозиды, вина.

Введение

Определению антоцианов в экстрактах плодов винограда посвящено огромное количество опубликованных статей – более 36 тысяч ссылок на запрос «anthocyanins and grape and hplc» обнаруживается в Google Академии. Однако большая часть из них направлена лишь на

определение компонентов (не обязательно всех) в кем-то ранее разработанных условиях, при отсутствии требований по полноте разделения и времени разделения. Например, в работе [1] для разделения использовали градиентное элюирование в подвижных фазах, содержащих только 2 об.% муравьиной кислоты, что по нашим данным [2] не

удачно, поскольку приводит к неодинаковой для различных антоцианов степени перехода флавилиевой формы в форму псевдооснования, искажая расчеты состава антоцианов по площадям пиков. Более того, в работе предложен режим элюирования, в котором первый антоциан появляется только после 30-ой минуты, а за последующие 30 мин с колонки элюируются все остальные антоцианы при отсутствии 3,5-диглюкозидов. В другой работе [3] приведены хроматограммы с хорошими симметричными пиками определяемых веществ, позволяющие детектировать не только антоцианы, но и другие фенольные соединения. Однако из антоцианов на хроматограмме обозначены (и определены далее в экстракте винограда) только пять антоцианов: цианидин-3,5-диглюкозид, пеларгонидин-3,5-диглюкозид, мальвидин-3,5-диглюкозид, пеонидин-3-глюкозид и мальвидин-3-глюкозид. По нашему опыту [4, 5] винограды только с указанными антоцианами не существуют – антоцианов должно быть (не считая ацилированные уксусной, *паракумаровой* и *кофейной* кислотами) не менее десяти для гибридных сортов винограда: пять 3,5-диглюкозидов и пять 3-глюкозидов основных антоцианидинов, среди которых обычно практически всегда отсутствуют производные пеларгонидина. Как отмечалось ранее, проблемы в разделении 3-глюкозидов пяти основных антоцианидинов, синтезируемых в плодах *Vitis vinifera*, нет – все компоненты разделяются в постоянном для любых стационарных C18 фаз и любых составах подвижных фаз на основе ацетонитрила или метанола в следующем порядке [6]:

$$t_R(\text{Dp3G}) < t_R(\text{Cy3G}) < t_R(\text{Pt3G}) < < \\ t_R(\text{Pn3G}) < t_R(\text{Mv3G}),$$

где сопоставляются времена удерживания 3-глюкозидов дельфинидина, цианидина, петунидина, пеонидина и мальвидина, соответственно.

Затруднения возникают при определении всех компонентов антоцианового комплекса межвидовых гибридов. Скрещивание *Vitis vinifera* с другими видами

винограда увеличивает морозостойкость, а с ней и ареал возможного выращивания винограда далеко за пределы Средиземноморья, сопряжено с появлением 3,5-диглюкозидов этих же антоцианидинов [7]. Сами 3,5-диглюкозиды также легко разделяются в том же порядке по агликону, что и 3-глюкозиды. Но добавление второго глюкозидного заместителя существенно уменьшает удерживание антоцианов и происходит наложение двух рядов производных антоцианидинов, проблема разделения которых уже становится достаточно сложной. Примером успешного сорта межвидового винограда является сорт «Молдова», выращиваемый на территории России и являющийся основной товарной продукцией этого сектора на Российском рынке.

Карта разделения всех десяти неацилированных компонентов антоцианового комплекса кожуры (место, в котором происходит накопление этих соединений) плодов винограда была представлена в работе [4]. В этой же работе предложен вариант градиентного режима, который может быть использован для разделения (на уровне базовой линии) всех указанных выше десяти компонентов. Однако приведенную в цитируемой работе хроматограмму трудно признать эффективной, поскольку на ней присутствует широкий пик мальвидин-3,5-диглюкозида.

В настоящей работе была поставлена задача исследования влияния температуры на селективность разделения 3-глюкозидов и 3,5-диглюкозидов, поскольку такое изменение температуры разделения оказалось эффективным при разделении 15-ти антоцианов плодов черники [8]. Кроме того, рост температуры должен был улучшить форму пиков 3,5-диглюкозидов, которые на хроматограммах имеют заметно более широкие пики по сравнению с 3-глюкозидами.

Экспериментальная часть

Вина, приготовленные из виноградов сортов «Каберне» и «Каберне Совиньон» были приобретены в супермаркетах.

Спектрофотометрическое определение антоцианов вина проводили без предварительной обработки по методике [9]. Для ВЭЖХ определения из вин отгоняли этанол на вакуумном ротационном испарителе и затем очищали и концентрировали методом твердофазной экстракции (ТФЭ) на патронах ДИАПАК С18 (Био-ХимМак СТ, РФ).

Винограды приобретали в розничной торговле и на специализированных выставках-продажах. Экстракты кожуры виноградов получали настаиванием кожуры в 0.1 М водном растворе соляной кислоты с последующей очисткой методом ТФЭ.

Антоцианы разделяли на хроматографе Agilent 1200 Infinity с диодно-матричным детектором с хроматографической колонкой 150×4.6 мм Symmetry C18, 3.5 мкм.

Первый вариант градиентного режима (ГР1), разработанный в нашей лаборатории, включал два состава подвижной фазы: А – 6 об.% ацетонитрила, 10 об.% муравьиной кислоты в воде и Б - 20 об.% ацетонитрила, 10 об.% муравьиной кислоты при температуре термостата колонок 40°C: 0 мин – 0% Б, 20 мин – 100% Б, 31 мин – 100% Б, 32 мин – 0% Б, 42 мин – 0% Б.

Второй более простой вариант градиентного режима (ГР2), использует также два состава подвижной фазы: А – 6 об.% ацетонитрила, 10 об.% муравьиной кислоты в воде и Б - 30 об.% ацетонитрила, 10 об.% муравьиной кислоты при температуре термостата колонок 55°C: 0 мин – 0% Б, 30 мин – 90% Б, 31 мин – 0% Б, 41 мин – 0% Б.

Мертвое время определяли по удерживанию щавелевой кислоты. Запись, хранение и обработку хроматограмм проводили с использованием ПО Agilent ChemStation.

Для расчета энтальпии переноса антоцианов с подвижной фазы на стационарную использовали стандартный подход [10], по которому находили зависимость

между натуральным логарифмом фактора удерживания антоцианов и обратной температурой:

$$\ln k(i) = -\frac{\Delta H}{R} \cdot \frac{1}{T} + \left(\frac{\Delta S}{R} + \ln \phi\right) = -\frac{\Delta H}{R} \cdot \frac{1}{T} + \text{const} \cdot$$

Подвижные фазы готовили из дистиллированной воды, муравьиной кислоты (85% Китай) и ацетонитрила (Fisher Chemical, UK). После смешивания компонентов полученный раствор профильтровывали и дегазировали.

Обсуждение результатов

Простой и удобный вариант градиентного элюирования (ГР), успешно используется в нашей лаборатории в качестве базового для разделения различных наборов антоцианов, включающих даже диацилированные замещенными коричневыми кислотами [11], различных растительных объектов. При исследовании вин, полученных из виноградов сортов Каберне и Каберне Совиньон, относящихся к *Vitis vinifera* вначале был использован метод дифференциальной спектрофотометрии [9]. При этом было установлено, что, окраска вина обусловлена не только присутствием мономерных антоцианов, но и большой концентрацией также окрашенных полимерных антоцианов, образующихся при приготовлении вина, табл. 1. Отметим, что как предполагалось в работе [12] на хроматограммах проявляется затянутый пик, начинающийся около мертвого времени колонки

Высокая концентрация полимерных антоцианов в вине, изготовленном из винограда сорта Каберне Совиньон, была обнаружена и в работе [13]. На этом основании можно считать, что предложение использовать антоцианы вин [14] как своего рода стандартные образцы антоцианов трудно признать удачным. Значительно более удачны в этом отношении антоцианы экстракта листьев багрянника канадского (*Cercis canadensis*) [15], в которых нет ацилированных антоцианов, затрудняющих использование экстрактов в изократических условиях.

Таблица 1. Результаты определения антоцианов вин, полученных из виноградов сорта Каберне или Каберне Совиньон (по этикеткам на бутылках)

Table 1. Results of the determination of anthocyanins in wines made from Cabernet or Cabernet Sauvignon grapes (according to the bottle labels)

№	Производитель вина	Доля полимерных антоцианов, %, ± 0.8	Соотношение площадей пиков, ± 0.1		Примечание
			S(2*)/S(1*)	S(2*)/S(3*)	
1	Россия	40.3	1.2	0.16	
2	Россия	46.5	20.6	9.0	
3	Россия	44.0	17.4	3.8	
4	Россия	64.6	2.3	0.17	
5	Россия	58.5	8.9	1.0	Наличие постороннего пика
6	Италия	32.8	0	0	
7	Италия	56.4	0	0	
8	Франция	43.2	0	0	

*Номера пиков веществ 1 – Pt3G; 2 – Mv3,5diG; 3 – Mv3G.

*Peak numbers of substances: 1 – Pt3G; 2 – Mv3,5diG; 3 – Mv3G.

При исследовании антоцианов гибридных виноградов хроматографическим методом с использованием градиента ГР1, который обычно осуществляли при температуре 40°C, хорошо разделяется большинство 3,5-ди- и 3-глюкозидов пяти основных антоцианидинов (дельфинидина, цианидина, петунидина, пеонидина и мальвидина), за исключением пары 3,5-диглюкозида мальвидина (8) и 3-глюко-

зида петунидина (7), рис. 1. Это не приемлемо вследствие необходимости контроля содержания именно Mv3,5diG как метчика получения винограда при межвидовом скрещивании. В нашем исследовании было установлено, что в случае двух чилийских и одного французского вина, изготовленных согласно информации на этикетке из винограда сорта Каберне Совиньон, на хроматограммах обнаружен обычный для *Vitis vinefera* набор

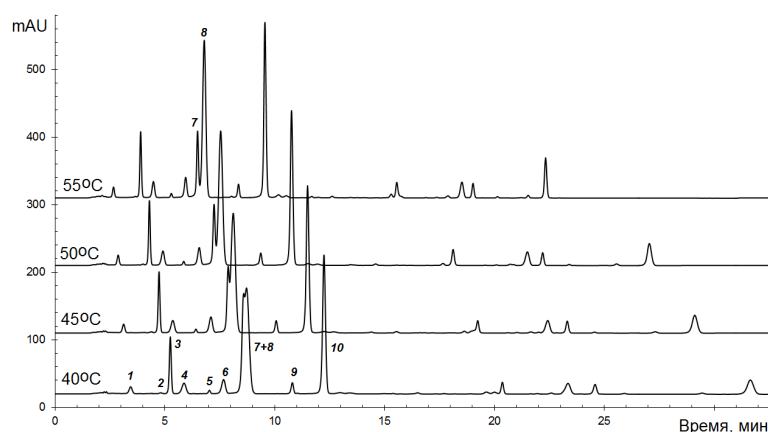


Рис. 1. Разделение антоцианов экстракта плодов винограда сорта «Надежда» при различных температурах. Градиентное элюирование (ГР1). Антоцианы: 1 – Dp3,5diG; 2 – Cy3,5diG; 3 – Dp3G; 4 – Pt3,5diG; 5 – Cy3G; 6 – Pn3,5diG; 7 – Pt3G; 8 – Mv3,5diG; 9 – Pn3G и 10 – Mv3G; вещества с большими временами удерживания – ацилированные антоцианы.

Fig. 1. Separation of anthocyanins in an extract of Nadezhda grapes at different temperatures Gradient elution (GE1). Anthocyanins: 1 – Dp3,5diG; 2 – Cy3,5diG; 3 – Dp3G; 4 – Pt3,5diG; 5 – Cy3G; 6 – Pn3,5diG; 7 – Pt3G; 8 – Mv3,5diG; 9 – Pn3G and 10 – Mv3G; substances with long retention times are acylated anthocyanins.

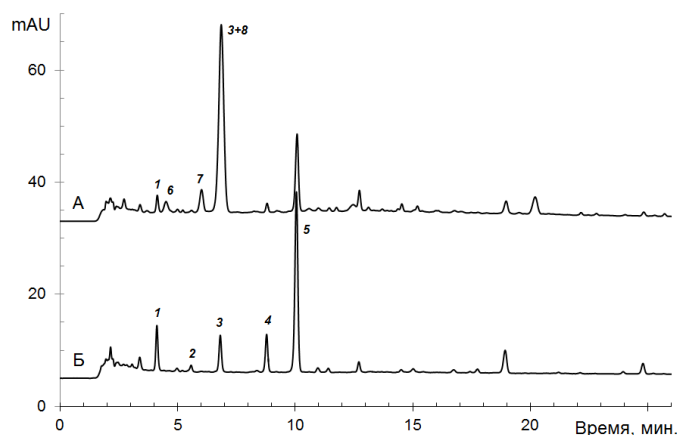


Рис. 2. Разделение антоцианов вин, изготовленных из виноградов сортов «Каберне» или «Каберне Совиньон» производства России (А); Франции (Б). Вещества: 1 – Dp3G; 2- Cy3G; 3 – Pt3G; 4 – Pn3G; 5 – Mv3G; 6 - Pt3,5diG, 7 – Pn3,5diG, 8 – Mv3,5diG.

Fig. 2. Separation of anthocyanins of wines made from Cabernet or Cabernet Sauvignon grapes produced in Russia (A) and France (B). Substances: 1 – Dp3G; 2- Cy3G; 3 – Pt3G; 4 – Pn3G; 5 – Mv3G; 6 - Pt3,5diG, 7 – Pn3,5diG, 8 – Mv3,5diG.

антоцианов. В то же время в винах пяти российских производителей пик указанной выше пары веществ или заметно уширен, что уже указывает, как минимум, на присутствие Mv3,5diG. Более того для одного из исследованных вин Российского производителя соответствующий широкий пик имеет специфический только для Mv3,5diG спектр поглощения в УФ-видимой области, рис. 2. Т.е. пять исследованных вин изготовлены из винограда, к которому, в лучшем случае, был добавлен межвидовой гибридный виноград.

Для решения задачи разделения этой пары антоцианов проведено исследование по влиянию температуры на удерживание антоцианов. Расчет энтальпии переноса антоцианов из подвижной фазы на стационарную показал, что, во-первых, все процессы сорбции экзотермические. Во-вторых, при росте удерживания при переходе от производных дельфинидина к производным мальвидина ΔH почти монотонно уменьшаются (по абсолютной величине). В-третьих, добавление второго глюкозидного заместителя приводит также к уменьшению ΔH по модулю, табл. 2. Но самое важное состоит в том, что для критической пары Mv3,5diGlu и

Pt3Glu различия в энтальпийных факторах заметны, следовательно, при росте температуры удерживание второго вещества из этой пары будет быстрее уменьшаться по сравнению с первым из них. В таком случае рост температуры является альтернативным вариантом изменения селективности разделения антоцианов межвидового сорта винограда

И действительно, изменяя в режиме хроматографирования ГР1 только температуру до 55°C, удается добиться желаемого результата, рис. 1. Кроме того и этот вариант элюирования может быть упрощен до ГР2, но при температуре 55°C. Использование таких условий позволило разделить все пики и рассчитать два типа соотношений площадей пиков: площади пика Mv3,5diG по отношению к площадям пиков Pt3G и Mv3G, соответственно. К сожалению, нам не известно, какое количество нативных антоцианов винограда перешло в полимерные формы в процессе производства и хранения вина, но ненулевые значения указанных соотношений однозначно свидетельствуют, по крайней мере, о добавлении к плодам винограда вида *Vitis vinifera* плодов виноградов межвидовых гибридов. А в одном

Таблица 2. Энтальпия переноса антоцианов из подвижной фазы (6 об.% CH₃CN и 10 об.% HCOOH в воде) на стационарную (Symmetry C18) фазу

Table 2. Enthalpy of transfer of anthocyanins from the mobile phase (6 vol.% CH₃CN and 10 vol.% HCOOH in water) to the stationary phase (Symmetry C18)

№	Агликон	ΔH, кДж/моль	
		3,5-diGlu	3-Glu
1	Дельфинидин, Dp	н/о	-33.5 ± 0.9
2	Цианидин, Cy	-30.9 ± 0.5	-31.3 ± 0.4
3	Петунидин, Pt	-30.6 ± 0.4	-31.9 ± 0.3
4	Пеонидин, Pn	-28.2 ± 0.6	-29.5 ± 0.6
5	Мальвидин, Mv	-28.9 ± 0.3	-30.4 ± 0.4

из образцов вообще был обнаружен посторонний пик, являющийся по типу спектра в УФ-видимой областях 3-гликозидом антоцианидина дельфинидинового ряда, который не должен присутствовать в вине, изготовленном из виноградов сортов Каберне и/или Каберне Совиньон. Но самое странное состоит в том, что по недавно выполненному исследованию, Mv3,5diG обнаруживается, пусть и не в больших количествах [16], в плодах сортов виноградов, которые по названию должны быть виноградами вида *Vitis vinifera*. Отсюда возникает вопрос о чистосортности выращиваемых в России (и не только в Краснодарском крае) виноградов.

Список литературы

1. Morais H., Ramos C., Forgacs E., Cserhati T. et al. // *Chromatographia*. 2002. Vol. 56. pp. 173-175.
2. Дейнека В.И., Григорьев А.М. // *Ж. аналит. химии*. 2004. Т. 59. № 3. С. 305-309.
3. da Silva Padilha C.V., Miskinis G.A., Olinda de Souza M.E.A. et al. // *Food Chem*. 2017. Vol. 228. pp. 106-115.
4. Clifford M.N. // *J. Sci. Food Agric*. 2000. Vol. 80. pp. 1033-1042.
5. IUPAC Commission on the Nomenclature of Organic Chemistry (CNOC) and IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature (CBN). Nomenclature of cyclitols. Recommendations. 1973 // *Biochem. J*. 1976. Vol. 153. pp. 23-31.
6. Clifford M.N., Johnston K.L., Knight S. et al. // *J. Agric. Food Chem*. 2003. Vol. 51. pp. 2900-2911.

Заключение

Таким образом, изменение температуры является важным параметром, влияющим на разделение «проблемных» пар анализов, если энтальпии их переноса с подвижной фазы на стационарную различаются. Это позволило разработать простой вариант градиентного элюирования для разделения всех 3,5-диглюкозидов и 3-глюкозидов пяти основных антоцианидинов и выполнить анализ на отсутствие признаков скрещивания с другими видами (кроме *Vitis vinifera*) как в самих плодах, так и винах из них получаемых.

7. de Paula Lima J., Farah A., King B. et al. // *J. Agric. Food Chem*. 2016. Vol. 64. pp. 2361-2370.
8. Schütz K., Kammerer D., Carle R. et al. // *J. Agric. Food Chem*. 2004. Vol. 52. pp. 4090-4096
9. Дейнека В.И., Олейниц Е.Ю., Блинова И.П. и др. // *Ж. аналит. химии*. 2019. Т. 74. № 8. С. 588-594.
10. Cole L.A., Dorsey J.G. // *Anal. Chem*. 1992. Vol. 4. pp. 1317-1323.
11. Schoenmakers P.J., Billiet H.A.H., Tijssen R. et al. // *J. Chromatogr. A*. 1978. Vol. 149. pp. 519-537.
12. Murugesu K., Saghir S.A.M., Sadikun A. et al. // *Acta Chromatographica*. 2021. Vol. 33. pp. 170-178.
13. Bicchi C.P., Binello A.E., Pellegrino G.M. et al. // *J. Agric. Food Chem*. 1995. Vol. 43. pp. 1549-1555.
14. Ky C.-L., Noirot M., Hamon S. // *J. Agric. Food Chem*. 1997. Vol. 45. pp. 786-790.

15. Xue M., Shi H., Zhang J. et al. // *Molecules*. 2016. Vol. 21. 948.

16. Агеева Н.М., Маркосов В.А., Ильина И.А., Дергунов А.В. // *Химия растительного сырья*. 2021. № 2. С. 201-208.

Determination of the grape anthocyanins under reversed-phase HPLC conditions

© 2021 Deineka V.I.¹, Makarevich S.L.², Blinova I.P.¹, Oleinits E.Yu.¹, Deineka L.A.¹

¹Belgorod State National Research University, Belgorod

²Belgorod Interregional Veterinary Laboratory, Belgorod

We developed a simple gradient separation option for all 3-glucosides and 3,5-diglucosides of the five main anthocyanidins (delphinidin, cyanidin, petunidin, peonidin, and malvidin) characterising anthocyanin biosynthesis in fruit of different grape varieties of *Vitis vinifera* species (first group) as well as in other grape varieties (North American or Far Eastern origin), and in their hybrids. For separation, we used HPLC with a Symmetry C18 stationary phase and the eluents of 10 vol.% formic acid and two different compositions of 6 vol.% and 20/30 vol.% acetonitrile in water. Interspecific hybrids are distinguished by the appearance of 3,5-diglucosides in their extracts in addition to 3-glucosides. Both 3-glucosides and 3,5-diglucosides can be separated easily under conditions of reversed-phase chromatography. The problem of separation arises only when they both appear in a sample, especially the pair of petunidin-3-glucoside and malvidin-3,5-diglucoside. In order to separate the above anthocyanins, we determined the enthalpies of the transfer of these anthocyanins from the mobile phase to the stationary phase. It was found experimentally that all sorption processes were exothermic. The transfer enthalpy was different for 3-glucosides and 3,5-diglucosides. It decreased in magnitude, when the glucoside radical was added to position 5. The difference in this parameter for petunidin-3-glucoside and malvidin-3,5-diglucoside makes it possible to change the selectivity of the analyte separation by increasing the separation temperature from 40 to 55°C. This allows testing grape varieties and wines for the markers of crossbreeding with non-*Vitis vinifera* species. In this study, we used a number of wines bought in a supermarket, made from *Vitis vinifera* Cabernet or Cabernet Sauvignon grapes. It was determined that there were no 3,5-diglucosides in the studied wines produced in Chile and France. This indicates the use of only *Vitis vinifera* grapes in their production. However, we found significant amounts of 3,5-diglucoside in all the wines produced in Russia, indicating the use of hybrid grape varieties (such as the Moldova variety, which is popular in Russia).

Keywords: reversed-phase HPLC, anthocyanin separation, temperature effect, grape anthocyanins, 3-glucosides, 3,5-diglucosides, wines.

References

1. Clifford M.N., Knight S., Kuhnert N., *J. Agric. Food Chem.*, 2005, Vol. 53, pp. 3821-3832. <https://doi.org/10.1021/jf050046h>
2. Deineka V.I., Grigor'ev A.M., *J. Anal. Chem.*, 2004, Vol. 59, pp. 270-274. <https://link.springer.com/article/10.1023/B:JANC.0000018972.54587.ce>
3. da Silva Padilha C.V., Miskinis G.A., Olinda de Souza M.E.A. et al., *Food Chem.*, 2017, Vol. 228, pp. 106-115. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.137>
4. Clifford M.N., *J. Sci. Food Agric.*, 2000, Vol. 80, pp. 1033-1042. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(20000515\)80:7<1033::AID-JSFA595>3.0.CO;2-T](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:7<1033::AID-JSFA595>3.0.CO;2-T)
5. IUPAC Commission on the Nomenclature of Organic Chemistry (CNOC) and IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature (CBN). Nomenclature of cyclitols. Recommendations, 1973, *Biochem. J.*, 1976, Vol. 153, pp. 23-31. <https://doi.org/10.1042/bj1530023>
6. Clifford M.N., Johnston K.L., Knight S. et al., *J. Agric. Food Chem.*, 2003, Vol. 51, pp. 2900-2911. <https://doi.org/10.1021/jf026187q>
7. de Paula Lima J., Farah A., King B. et al., *J. Agric. Food Chem.*, 2016, Vol. 64, pp. 2361-2370. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b00276>
8. Schütz K., Kammerer D., Carle R., Schriber A., *J. Agric. Food Chem.*, 2004, Vol. 52, pp. 4090-4096. <https://doi.org/10.1021/jf049625x>

9. Deineka V.I., Oleinits E.Yu., Blinova I.P. et al., *J. Anal. Chem.*, 2019, Vol. 74, No 8, pp. 778-783. <https://link.springer.com/article/10.1134/S1061934819080057>
10. Cole L.A., Dorsey J.G., *Anal. Chem.*, 1992, Vol. 4, pp. 1317-1323. <https://doi.org/10.1021/ac00037a004>.
11. Schoenmakers P.J., Billiet H.A.H., Tijssen R. et al., *J. Chromatogr. A*, 1978, Vol. 149, pp. 519-537. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)81008-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)81008-0).
12. Murugesu K., Saghir S.A.M., Sadikun A. et al., *Acta Chromatographica*, 2021, Vol. 33, pp. 170-178. <https://doi.org/10.1556/1326.2020.00690>.
13. Bicchi C.P., Binello A.E., Pellegrino G.M. et al., *J. Agric. Food Chem.*, 1995, Vol. 43, pp. 1549-1555. <https://doi.org/10.1021/jf00054a025>.
14. Ky C.-L., Noirot M., Hamon S., *J. Agric. Food Chem.*, 1997, Vol. 45, pp. 786-790. <https://doi.org/10.1021/jf9605254>.
15. Xue M., Shi H., Zhang J., Liu Q.-Q. et al., *Molecules*, 2016, Vol. 21, pp. 948. <https://doi.org/10.3390/molecules21070948>.
16. Ageeva N.M., Markosov V.A., Iltina I.A., Dergunov A.V., *Khimiya rastitel'nogo sy-rya*, 2021, Vol. 2, pp. 201-208. <https://doi.org/10.14258/jcprm.2021027427>.

Дейнека Виктор Иванович – профессор кафедры общей химии, д.х.н., Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород

Макаревич Сергей Леонидович – инженер-химик II категории, ФГБУ «Белгородская межобластная ветеринарная лаборатория», Белгород

Блинова Ирина Петровна – доцент кафедры общей химии, к.х.н., Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород

Олейниц Елена Юрьевна – аспирант кафедры общей химии, к.х.н., Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород

Дейнека Людмила Александровна – доцент кафедры общей химии, к.х.н., Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород

Deineka Viktor I. – Professor of the Department of General Chemistry Belgorod National Research University, Belgorod, e-mail deineka@bsu.edu.ru

Makarevich Sergey L. – Chemical engineer category II, FSBI "Belgorod Interregional Veterinary Laboratory", Belgorod, e-mail sergmazay@yandex.ru

Blinova Irina P. – Associate Professor of the Department of General Chemistry Belgorod state national research University, Belgorod, e-mail blinova@bsu.edu.ru

Oleinits Elena Yu. – Post Graduate of Belgorod National Research University, Belgorod, e-mail oleinits_e@bsu.edu.ru

Deineka Lyudmila A. – Associate Professor of the Department of General Chemistry Belgorod state national research University, Belgorod, e-mail deyneka@bsu.edu.ru