

Установление сортовой принадлежности винограда по выявленным элементам-маркерам в ягоде и различных её составляющих частях

**А.Г. Абакумов, В.О. Титаренко, А.А. Халафян,
*З.А. Темердашев, А.А. Каунова**

Кубанский государственный университет, 350040, Россия, Краснодар, ул. Ставропольская, 149

*Адрес для переписки: Темердашев Зауаль Ахлоович, E-mail: temza@kubsu.ru

Поступила в редакцию 11 мая 2018 г., после доработки – 20 сентября 2018 г.

Объектами исследования были образцы ягод винограда сортов Каберне и Рислинг, произведенных на территории Краснодарского края и предоставленных непосредственно их производителем. Рассматриваются особенности многоэлементного анализа ягод винограда методом АЭС-ИСП. Изучено распределение элементов в ягодной кожуре, косточках и мякоти. Выявлены элементы-маркеры сортовой принадлежности винограда. Оптимизированы условия подготовки проб ягод винограда и основных ее частей к анализу способом СВЧ-кислотной минерализации, обеспечивающие минимальный уровень потерь определяемых элементов. В оптимизированных условиях методом АЭС-ИСП исследован элементный состав частей ягоды винограда сортов Рислинг и Каберне, выращенных на Кубани. Показано, что концентрации некоторых элементов, как в разных частях ягод винограда, так и в различных сортах существенно различаются. Для разделения образцов по элементному «образу» частей ягод и сортовой принадлежности винограда использовали пошаговый дискриминантный анализ, реализованный в программе STATISTICA. Классификационный анализ с обучением позволил графически представить межгрупповые отличия между объектами. Для осуществления процесса дискриминации выбран пошаговый с исключением метод, который позволил последовательно исключить 15 элементов, а оставшиеся 6 элементов (Ba, Cr, Mg, Rb, Sr и Ti) определить, как элементы-маркеры отличия различных фрагментов ягод винограда Каберне и Рислинг. Построена диаграмма рассеяния канонических значений, показывающая локализацию кластеров образцов ягод, соответствующим 6 группам в определенных частях плоскости, на значительном расстоянии друг от друга. Составлены функции классификации, при помощи которых по содержанию элементов-маркеров в одной из трех частей ягоды винограда (мякоти, кожуре или косточке) возможна идентификация сорта винограда.

Ключевые слова: виноград, минеральный состав, атомно-эмиссионный анализ, статистический анализ, сортовая принадлежность.

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2019, vol. 23, no. 1, pp. 61–70

DOI: 10.15826/analitika.2019.23.1.002

Grapes cultivar assignments using the identified elements-markers of grape berry and its different constituent parts

**A.G. Abakumov, V.O. Titarenko, A.A. Khalafyan,
*Z.A. Temerdashev, A.A. Kaunova**

Kuban State University, Russian Federation, 350040, Krasnodar, Stavropolskaya st., 149

*Address for correspondence: Zauval A. Temerdashev, E-mail: temza@kubsu.ru

Submitted 11 May 2018, received in revised form 20 September 2018

The objects of our research were the samples of Cabernet and Riesling grape varieties produced in the Krasnodar Territory, Russia. The samples of grapes have been provided by their direct producers. The features of the multi-element analysis of grape berries by the method of AES-ICP were examined, their distribution in berry peel, bones and pulp as well as the revealed elements-markers of varietal belonging of

grapes were studied. The conditions for preparing the samples of grapes and its main parts for the analysis by the microwave acid mineralization were optimized, ensuring a minimum level of losses of the elements to be determined. The elemental composition of Riesling and Cabernet grape varieties grown in the Kuban region was studied under the optimized conditions by the AES-ICP method. It was shown that the concentrations of some elements, both in different parts of the grapes and in different grape grades, differ significantly. The step-wise discriminant analysis, implemented in the STATISTICA program, was used to separate the samples according to the elemental "image" of the berry parts and the grape variety. The classification analysis with training allowed graphically presenting the intergroup differences between the objects. For the implementation of the discrimination process a step-by-step with exception method was selected that allowed excluding 15 elements successively, and defining the remaining 6 elements (Ba, Cr, Mg, Rb, Sr, Ti) as the markers for distinguishing the different fragments of Cabernet and Riesling grapes. A scattering diagram of canonical values was constructed that showed the localization of clusters of berries samples corresponding to the 6 groups in certain parts of the plane at a considerable distance from each other. The classification functions were developed that helped identifying the grape varieties by the content of the marker elements in one of the three parts of the grape berries - pulp, peel or bone.

Key words: grapes, mineral composition, statistical analysis, cultivar assignment

ВВЕДЕНИЕ

Наряду с органическими соединениями в ягодах винограда содержатся минеральные вещества, общее количество которых формируется поступлениями из источников природного и антропогенного происхождения. Информация о содержании в ягоде винограда макро- и микроэлементов является необходимой с точки зрения оценки их воздействия на здоровье человека [1, 2]. Главным образом элементы поступают в виноград через корни виноградной лозы, которая избирательно поглощает необходимые ей элементы в количествах, соответствующих ее физиологическим и биохимическим потребностям. Для разных сортов винограда (частях ягоды) характерна схожая модель накопления и распределение элементов [3-5].

Элементный состав существенно влияет на вкус винограда и продукты его переработки [6, 7]. Как свидетельствуют данные [8, 9], элементный состав различных сортов и частей ягоды (кожица, мякоть и косточки) неодинаков. Можно предположить, что содержание и распределение элементов в различных частях винограда позволит дифференцировать сортовое происхождение ягоды. Для изучения данного предположения необходимо связать данные об элементном составе различных частей ягоды, выявить элементы-маркеры, сформировать «образ», характеризующий сорт винограда.

Из значительного арсенала инструментальных методов определения металлов в пищевых продуктах для установления их элементного состава чаще всего используются методы атомной спектроскопии, так как они характеризуются многоэлементностью, большей селективностью, хорошей воспроизводимостью, высокой чувствительностью и разнообразием в выборе анализируемых образцов и диапазона определяемых концентраций. Анализ литературных данных [8,10-12] показал, что для установления элементного состава ягод винограда чаще всего используют метод атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой (АЭС-ИСП).

В качестве метода подготовки проб при анализе ягод винограда методом АЭС-ИСП преимущественно используют способы сухой, кислотной и автоклавной СВЧ-кислотной минерализации. Авторами [5, 13, 14] описан способ сухой минерализации вина, ягод и листьев винограда, но получение сухого остатка пробы трудозатратно и требует большого количества времени. В [14, 15] показано, что для установления элементного состава пищевых продуктов методом АЭС-ИСП возможно применение кислотной СВЧ-минерализации с HNO_3 и H_2O_2 , солюбилизации в царской водке и экстракции металлов HCl . Большинство исследователей [5, 8, 12, 16] отдают предпочтение кислотной минерализации проб с использованием микроволнового разложения. В этом случае герметичность применяемых автоклавов минимизирует потери летучих компонентов, неизбежных в случае применения кислотного разложения [8]. Данные способы, в принципе, обеспечивают удовлетворительную сходимость и воспроизводимость результатов. Следует отметить, что в случае сухой и кислотной минерализации испытуемых образцов возможны потери летучих элементов [5], а при солюбилизации в царской водке и экстракции металлов HCl , помимо продолжительности пробоподготовки, весьма сомнительным представляется полнота сжигания или экстракции элементов с использованием минеральных кислот и их смесей.

В работе [17] нами изучена взаимосвязь между элементным составом винограда и почвой региона его произрастания с применением пошагового дискриминантного анализа, который позволил с достаточно высокой достоверностью установить различия между различными регионами. Анализ публикаций по дифференциации вин [18-23] позволяет предположить, что после выявления элементов-маркеров ягоды и разных составляющих частей винограда также возможно установление его сортовой принадлежности с использованием методов статистического моделирования.

Цель настоящего исследования – выявить элементы-маркеры и установить сортовую принад-

лежность винограда с использованием методов статистического моделирования и данных многоэлементного АЭС-ИСП анализа различных частей – ягоды, кожицы, мякоти и косточек.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объекты исследований. В качестве объекта исследования использовали образцы винограда сортов Каберне и Рислинг, отобранные в 2015 г. на территории винодельческого хозяйства с детальной направленностью виноградарства и виноделия ОАО «Фанагория», расположенного в Таманской географической подзоне.

Материалы и реактивы. Для установления элементного состава испытуемых образцов использовали государственные стандартные образцы растворов металлов: ГСОПМ № 7854-2000 (Al), 7760-2000 (Ba), 8065-94 (Ca), 6690-93 (Cd), 8089-94 (Co), 8035-94 (Cr), 7998-93 (Cu), 8032-94 (Fe), 8092-94 (K), 7780-2000 (Li), 7190-95 (Mg), 7762-2000 (Mn), 8086-94 (Mo), 8062-94 (Na), 8001-93 (Ni), 7012-93 (Pb), 7358-2003 (Rb), 7145-95 (Sr), 7205-95 (Ti), 7774-2000 (V), 7770-2000 (Zn). Во всех стандартных образцах концентрации металлов в растворах составляли 1 г/дм³, кроме образцов с Na и K, содержания в которых составляла 10 г/дм³.

Градуировочные графики для микро- (Ba, Cd, Co, Cr, Li, Mo, Ni, Pb, Ti, V) и минорных (Al, Cu, Fe, Mn, Rb, Sr, Zn) компонентов получали из одноэлементных стандартных образцов в диапазоне концентраций (1 – 1000 мкг/дм³) с добавками, содержащими K и Ca с концентрациями 100 и 50 мг/л, соответственно. При определении макрокомпонентов (Ca, K, Mg, Na) градуировочные графики строили в диапазоне концентраций 100 – 10000 мкг/дм³ без внесения добавок.

Использованные для исследования испытуемых образцов азотная кислота и пероксид водорода по квалификации были не ниже «х.ч.», для приготовления растворов применяли бидистиллированную воду.

Подготовка проб к анализу. При подготовке образцов ягод винограда и ее различных частей (кожицы, мякоти и косточек) условия их вскрытия выбирали таким образом, чтобы они были максимально идентичны для исключения потерь аналитов или загрязнения. Важно было, чтобы все пробы к анализу были подготовлены по единой методике, после которой было возможно одновременное многоэлементное определение аналитов методом АЭС-ИСП в широком диапазоне их концентраций. Для этих целей нами применялась кислотная минерализация образцов с использованием микроволнового разложения. При подготовке ягод винограда и ее частей к анализу использовали микроволновую систему Ethos 1 (Milestone) и рекомендации разработчиков этой системы. В автоклав помещали 2 г части ягоды винограда (ягоду предварительно промывали дистиллированной водой и высушивали).

Минерализацию образца проводили в автоклавах при повышенном давлении с использованием окислительной смеси, состоящей 5.0 см³ концентрированной HNO₃, 1.0 см³ H₂O₂ и 4.0 см³ бидистиллированной воды. Программа вскрытия проб включала постепенный нагрев до 200 °С в течение 10 минут (1 стадия) и выдерживание реакционной камеры при 200 °С в течение 10 минут (2 стадия). Вскрытие автоклавов проводили при температуре ниже 40 °С для исключения потерь легколетучих элементов. По окончании вскрытия содержимое автоклава переносили в колбу на 25 см³ и доводили до метки бидистиллированной водой. Сочетание кислотной минерализации испытуемых проб с использованием микроволнового разложения позволило нам готовить пробы к анализу в течение 30-40 мин.

Многоэлементное определение металлов в изученных образцах проводили с использованием атомно-эмиссионного спектрометра с индуктивно связанной плазмой серии iCAP-6000 (Thermo, США).

Обработку экспериментальных данных элементного состава испытуемых образцов ягод винограда и ее различных частей (кожицы, мякоти и косточек) проводили в среде пакета STATISTICA [24, 25].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Для выявления элементов-маркеров, характерных для конкретных сортов винограда проводили определения в образцах ягод 21 элемента: Al, Ba, Ca, Cd, Cr, Co, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Rb, Sr, Ti, V и Zn. Все эти элементы, с учетом литературных и наших экспериментальных данных [8, 16, 17, 22], по уровню их содержаний можно условно разделить на три группы:

- 1 группа (микрокомпоненты) – Ba, Cd, Co, Cr, Li, Mo, Ni, Pb, Ti и V, содержание элемента не превышает 1 мг/кг;
- 2 группа (минорные компоненты) – Al, Cu, Fe, Mn, Rb, Sr и Zn, содержание элемента не превышает 10 мг/кг;
- 3 группа (макрокомпоненты) – Ca, K, Mg и Na, содержание элемента превышает 10 мг/кг.

Разделение элементов на вышеперечисленные группы проводили для оценки влияния анализируемой матрицы с учетом содержания в ней компонентов на аналитический сигнал (**АС**) определяемого элемента при проведении анализа испытуемых образцов методом АЭС-ИСП. Аналитические линии, подобранные по диапазону определяемых концентраций и отсутствию спектральных помех, приведены в табл. 1.

В предыдущей нашей работе [17] обсуждены результаты оптимизации АЭС-ИСП определений аналитов в винограде и почвах с учетом влияния операционных параметров. Учитывая идентичность анализируемых объектов, для проведения анализа при аксиальном способе наблюдения плазмы в качестве оптимальных операционных характери-

Таблица 1

Спектральные линии для определения элементов методом АЭС-ИСП

Table 1

Spectral lines for determining elements by the ICP-AES method

Элемент	Длина волны, нм	Элемент	Длина волны, нм	Элемент	Длина волны, нм
Al	396.152 (I)	Fe	259.940 (II)	Ni	231.604 (II)
Ba	455.403 (II)	K	766.490 (I)	Pb	220.353 (II)
Ca	422.673 (I)	Li	670.784 (I)	Rb	780.023 (I)
Cd	226.502 (II)	Mg	280.270 (II)	Sr	421.552 (II)
Cr	267.716 (II)	Mn	257.610 (II)	Ti	334.941 (II)
Co	238.892 (II)	Mo	202.030 (II)	V	292.402 (II)
Cu	324.754 (I)	Na	588.995 (I)	Zn	213.856 (I)

Примечание: I – нейтральный атом, II – однократно ионизированный атом.

стик и параметров спектрометра iCAP-6000 были установлены:

- мощность высокочастотного генератора – 1150 Вт;
- скорость потока аргона, несущего аэрозоль – 0.5-0.6 л/мин;
- скорость вспомогательного потока аргона – 0.3-0.4 л/мин;
- скорость охлаждающего потока аргона – 12 л/мин.

При изучении влияния матрицы анализируемых образцов на АС аналита строили градуировочные графики на основе стандартных образцов растворов металлов с содержаниями микрокомпонентов (Ba, Cd, Co, Cr, Li, Mo, Ni, Pb, Ti, V) на уровне 1 мг/кг или 0.08 мг/л, минорных компонентов (Al, Cu, Fe, Mn, Rb, Sr, Zn) – не более 10 мг/кг или менее 0.8 мг/л, макрокомпонентов (Ca, K, Mg, Na) – свыше 10 мг/кг или более 0.8 мг/л. Предварительно на модельных растворах было изучено влияние Ca, K, Na и Mg на АС микро- и минорных компонентов, а также влияние концентраций минорных компонентов на АС микрокомпонентов. Установлено, что низкие содержания находящихся в матрице элементов (менее 10 мг/кг) не оказывают влияния на интенсивности АС аналитов. Присутствие Na и Mg в количестве до 5 мг/л не приводит к изменению АС элементов. Аналогичные зависимости на-

блюдали для элементов в присутствии Ca и K (до 10 мг/л), а при содержаниях Ca выше 50 мг/л происходит значительное изменение интенсивностей линий Ba и Li (рис. 1). При содержаниях калия выше 50 мг/л происходит увеличение АС лития и снижение АС бария, алюминия и марганца (менее 10 %) (рис. 2), что связано с ионизационными помехами в плазме разряда.

Исходя из полученных результатов было установлено, что для учета и снижения матричного влияния на АС определяемых элементов при проведении градуировки спектрометра с использованием стандартных растворов элементов в градуировочные растворы необходимо вводить добавку, содержащую K и Ca с концентрациями 100 и 50 мг/л, соответственно. При определении макрокомпонентов введение дополнительных добавок не требуется. С учетом оптимизированного состава градуировочного раствора методом «введено-найдено» изучали правильность определения металлов в растворах, приготовленных из ягод винограда (сорт Каберне Совиньон) с применением СВЧ минерализации (табл. 2). В оптимизированных условиях анализа мы получили удовлетворительные значения погрешностей определения аналитов.

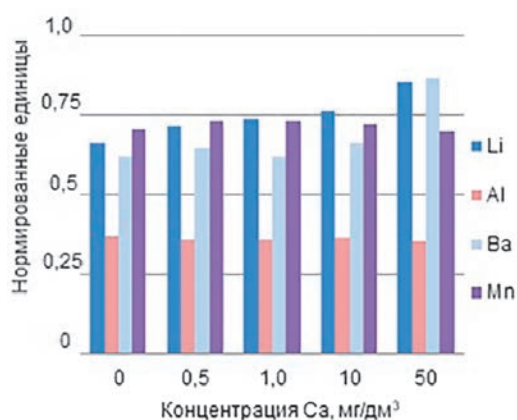


Рис. 1. Влияние концентрации кальция на аналитические сигналы Li, Al, Ba, Mn в модельных растворах

Fig. 1. Effect of calcium concentration on the analytical signals of Li, Al, Ba, Mn in model solutions

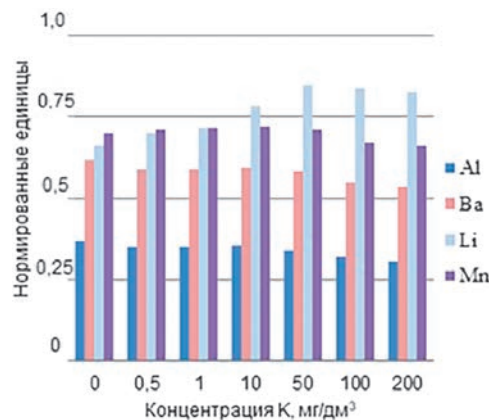


Рис. 2. Влияние концентрации калия на аналитические сигналы Al, Ba, Li, Mn в модельных растворах

Fig. 2. Effect of potassium concentration on the analytical signals of Al, Ba, Li, Mn in model solutions

Таблица 2

Результаты определения элементов в растворах, приготовленных из ягод винограда (сорта Каберне Совиньон) с применением СВЧ пробоподготовки ($P = 0.95$; $n = 5$)

Table 2

The results of elements determination in solutions prepared from the grape berries (Cabernet Sauvignon variety) using the microwave sample preparation ($P = 0.95$; $n = 5$)

Элемент	Содержание, мкг/л			
	Проба	Введено	Найдено	$\Delta_{\text{отн.}} \%$
Al	203	250	471	7.2
	190		455	6.0
	193		459	6.4
	189		453	5.6
	195		462	6.8
Ba	21	20	42	5.0
	20		40	0
	24		48	20
	22		44	10
	23		46	15
Li	3.3	5.0	8.7	8.0
	3.5		9	10
	3.7		9.5	16
	3.4		9	12
	3.6		9.3	14
Mn	140	200	323	8.5
	145		332	6.5
	140		324	8.0
	139		327	6.0
	146		334	6.0
Na	3897	4000	7813	2.1
	3895		7804	2.3
	3913		7828	2.1
	3908		7816	2.3
	3912		7819	2.3
Ni	4.7	5.0	9.3	8.0
	4.8		9.4	8.0
	5.1		10	2.0
	5		9.8	4.0
	4.9		9.5	8.0
Rb	668	500	1131	7.4
	681		1139	8.4
	678		1134	8.8
	668		1125	8.6
	675		1136	7.8

С учетом оптимизированных условий анализа по отработанной методике определяли металлы в различных частях ягоды винограда, результаты которых сведены в табл. 3. Содержания элементов в изученных частях и ягодах различных сортов винограда отличались (исключение – К, который равномерно распределялся во всех частях ягоды). В мякоти ягод преобладали Na и К, кожице – Al, Fe, К, Na и косточках – Cu, Fe, К, Zn.

Для выявления элементов-маркеров, характерных для различных сортов винограда, исследовали распределение элементов в ягодах и раз-

личных их частях. Определяли элементы в мякоти, косточке, кожице (по 15 образцов) для каждого изучаемого сорта ягоды.

Для разделения образцов по элементному составу частей ягод и сортовой принадлежности винограда применили пошаговый дискриминантный анализ, реализованный в программе STATISTICA [24, 25], – единственный из методов классификационного анализа с обучением, позволяющий наглядно графически представлять межгрупповые отличия между объектами. При проведении пошагового дискриминантного анализа неинформативные, с точки зрения различия групп объектов, переменные исключали из дальнейшего анализа. Исключение переменных проводили по показателю уровня значимости (p -уров.) критерия Фишера (F). Переменные (в нашем случае – элементы), для которых уровень значимости при дискриминантном анализе превышает 0,05, из анализа целесообразно исключить. При проведении пошаговой дискриминации программа осуществляла автоматическое исключение переменных с уровнем значимости выше 0.05, а интерактивный режим анализа позволял проследить процедуру их исключения. Ввиду низкого содержания Cd, Co, Mo и V в исследуемых объектах в дискриминационную модель они включены не были. Затем, последовательно за 11 шагов были исключены 11 элементов, а 6 оставшихся элементов представлены в итоговой табл. 4. Основные результаты пошагового дискриминантного анализа, характеризующие качество дискриминации образцов, представлены в информационной части таблицы. Значения статистики *лямбда Уилкса* (λ) принадлежат интервалу от 0 до 1. Чем ближе λ к 0, тем лучше осуществлена дискриминация, и наоборот, чем ближе λ к 1, тем хуже дискриминация. Так как в данном случае *лямбда Уилкса* максимально приближена к нулю, то можно утверждать, что построена в высокой степени адекватная модель дискриминации.

По значениям *лямбды Уилкса* из первого столбца можно судить о важности той или иной переменной в процедуре дискриминации объектов, так как они являются результатом исключения соответствующей переменной из модели. Чем больше значение λ , тем более желательно присутствие этой переменной в процедуре дискриминации. Наименования элементов указаны в таблице в порядке убывания λ , т.е. важности содержания данного компонента в процедуре дискриминации в ряду Ba, Sr, Mg, Rb, Sr и Ti. Значение *Partial Lambda* (частная *лямбда*) есть отношение *лямбда Уилкса* после добавления соответствующей переменной к *лямбде Уилкса* до добавления этой переменной. Частная *лямбда* характеризует единичный вклад соответствующей переменной в разделительную силу модели. Чем меньше статистика *лямбда Уилкса*, тем больше вклад в общую дискриминацию. *F-remove* (*F-исключить*) – это значения *F-критерия*, связан-

Таблица 3

Содержание элементов в частях ягоды различных сортов винограда ($P = 0.95; n = 3$)

Table 3

The content of elements in berry parts of different varieties of grapes ($P = 0.95; n = 3$)

Элемент	Содержание элементов, мг/кг					
	Каберне			Рислинг		
	мякоть	кожица	косточки	мякоть	кожица	косточки
Al	1.9 ± 0.4	4.3 ± 0.9	1.8 ± 0.4	0.92 ± 0.20	2.1 ± 0.4	1.3 ± 0.3
Ba	0.15 ± 0.02	0.32 ± 0.05	0.71 ± 0.11	0.12 ± 0.03	0.29 ± 0.04	1.4 ± 0.2
Ca	95 ± 12	367 ± 45	2729 ± 332	138 ± 17	224 ± 27	2370 ± 289
Cd	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Co	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Cr, мкг/кг	15 ± 2	15 ± 2	11 ± 1	11 ± 1	22 ± 2	47 ± 5
Cu	1.6 ± 0.2	2.5 ± 0.3	6.1 ± 0.6	1.1 ± 0.1	2.3 ± 0.2	6.9 ± 0.7
Fe	12 ± 3	11 ± 2	22 ± 4	3.8 ± 0.8	9.8 ± 1.8	21 ± 4
K	1418 ± 240	1481 ± 251	2151 ± 364	1851 ± 313	2549 ± 432	2226 ± 377
Li, мкг/кг	20 ± 3	31 ± 4	30 ± 4	32 ± 4	41 ± 5	51 ± 6
Mg	44 ± 6	54 ± 7	601 ± 79	46 ± 6	83 ± 11	430 ± 52
Mn	0.50 ± 0.05	1.5 ± 0.2	6.9 ± 0.8	0.56 ± 0.05	1.5 ± 0.2	11 ± 1
Mo	<0.0002	<0.0002	<0.0002	<0.0002	<0.0002	<0.0002
Na	27 ± 3	34 ± 3	25 ± 3	16 ± 2	22 ± 2	16 ± 2
Ni	0.11 ± 0.04	0.15 ± 0.05	0.19 ± 0.07	0.09 ± 0.03	0.18 ± 0.06	0.33 ± 0.11
Pb, мкг/кг	51 ± 6	37 ± 5	64 ± 8	34 ± 4	49 ± 6	42 ± 5
Rb	1.4 ± 0.2	2.1 ± 0.4	2.1 ± 0.4	0.89 ± 0.16	2.1 ± 0.4	2.6 ± 0.4
Sr	0.56 ± 0.06	2.3 ± 0.2	6.3 ± 0.6	0.62 ± 0.06	2.3 ± 0.2	8.7 ± 0.9
Ti, мкг/кг	16 ± 4	168 ± 33	127 ± 26	28 ± 5	27 ± 5	47 ± 9
V	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
Zn	2.1 ± 0.2	2.8 ± 0.3	5.9 ± 0.7	2.1 ± 0.2	3.9 ± 0.4	7.2 ± 0.8

Таблица 4

Результаты пошагового дискриминантного анализа, характеризующие качество дискриминации испытуемых образцов ягод винограда

Table 4

The results of step by step discriminant analysis, characterizing the quality of discrimination of analyzed grape berry

N = 90	Итоги анализа дискриминантных функций					
	Шаг 11. Переменных в модели 6; Группирующая: Сорт и части ягоды (6 групп)					
	Лямбда Уилкса: 0.000 прилб. $F(30.318) = 497.55 p < 0.0000$					
	Уилкса Лямбда	Частная Лямбда	F-исключ. (5.79)	p-уров.	Толер.	1-толер.
Ba	0.00000038	0.500	15.81	0.000	0.686	0.314
Cr	0.00000564	0.034	454.8	0.000	0.818	0.182
Mg	0.00000188	0.101	141.4	0.000	0.929	0.071
Rb	0.00000068	0.279	40.8	0.000	0.820	0.180
Sr	0.00000065	0.290	38.7	0.000	0.716	0.284
Ti	0.00000040	0.468	17.99	0.000	0.854	0.146

ные с соответствующей частной лямбда Уилкса. Значение p -уров. определяет уровень значимости критерия для элемента F -исключить. Толерантность характеризует меру избыточности переменной в модели, для всех элементов, как видно из табл. 4, значения толерантности меньше единицы.

Об адекватности построенной модели дискриминации можно также судить по данным табл. 5, которая содержит информацию о количестве и проценте корректно классифицированных моделью

образцов по группам (классам), названия которых указаны в первом столбце. Строки матрицы представляют собой исходное распределение образцов по классам, столбцы – предсказанные методом. Из таблицы видно, что все предсказанные классы совпадают с исходными. Общий процент правильной классификации составляет 100 %.

На диаграмме рассеяния канонических значений, приведенной на рис. 3, образцы частей ягод для каждой группы изображены в виде оди-

Таблица 5

Матрица классификации вин по содержаниям в них компонентов

Table 5

The matrix of classification of wines by the content of components in them

Группа	Матрица классификации. Строки: наблюдаемые классы ($p = 0.1666$)						
	Столбцы: предсказанные классы						
	Процент правильно	Рислинг мякоть	Рислинг кожа	Рислинг косточки	Каберне мякоть	Каберне кожа	Каберне косточки
Рислинг, мякоть	100.0000	15	0	0	0	0	0
Рислинг, кожа	100.0000	0	15	0	0	0	0
Рислинг, косточки	100.0000	0	0	15	0	0	0
Каберне, мякоть	100.0000	0	0	0	15	0	0
Каберне, кожа	100.0000	0	0	0	0	15	0
Каберне, косточки	100.0000	0	0	0	0	0	15
Всего	100.0000	15	15	15	15	15	15

наковых геометрических фигурок одного цвета. Диаграмма позволяет образцы, являющиеся объектами в шестимерном пространстве (по количеству элементов), перенести в пространство размерности 2, сохранив порядок расстояний между ними. Чем меньше расстояние между кластерами геометрических фигурок, изображающих образцы, тем больше сходство между ними по совокупности выделенных элементов, и наоборот, чем больше расстояние, тем более они различны. Из диаграммы видно, что кластеры образцов ягод, соответствующие 6 группам локализованы в определенных частях плоскости. При этом на значительном расстоянии друг от друга расположены группы *Каберне косточки*, *Рислинг косточки*, *Каберне кожа*, *Рислинг кожа*. На незначительном удалении от двух последних групп расположены *Каберне мякоть* и *Рислинг мякоть*, т.е. по концентрациям совокупности выделенных компонентов отличия между кожей и мякотью у обоих сортов вин незначительные. В то же время, наблюдаются более существенные отличия в значениях концентраций

элементов в косточках и кожичей с мякотью. Диаграмма дополнительно подтверждает целесообразность использования пошагового дискриминантного анализа для анализа содержания элементов в частях ягоды винограда.

Адекватность построенной модели дискриминации можно объяснить тем, что посредством пошагового дискриминантного анализа нам удалось выявить элементы-маркеры, средние значения, разбросы и диапазоны, изменения которых существенно отличаются в различных фрагментах ягоды винограда Рислинг и Каберне. При этом пошаговым дисперсионным анализом установлено, что в большинстве случаев, несмотря на малые объемы выборки, эти отличия являются статистически значимыми. В табл. 6 для сравнения приведены средние значения, стандартные отклонения, минимальное и максимальное значение концентраций в трех частях ягоды винограда.

По таблице коэффициентов функций классификации легко составить функции классификации. Обозначим концентрации элементов-маркеров: C_{Ba} , C_{Cr} , C_{Rb} , C_{Sr} , C_{Ti} и C_{Mg} ; функции классификации для групп образцов фрагментов ягод *Рислинг мякоть*, *Рислинг кожа*, *Рислинг косточка*, *Каберне мякоть*, *Каберне кожа*, *Каберне косточка* соответственно – F_1 , F_2 , F_3 , F_4 , F_5 и F_6 . Тогда функции классификации примут вид:

$$F_1 = -12C_{Ba} - 134C_{Cr} + 31C_{Rb} + 11C_{Sr} - 14C_{Ti} + 0.060C_{Mg} - 19;$$

$$F_2 = -50C_{Ba} - 404C_{Cr} + 75C_{Rb} + 48C_{Sr} - 81C_{Ti} + 0.095C_{Mg} - 125;$$

$$F_3 = -16C_{Ba} - 760C_{Cr} + 60C_{Rb} + 179C_{Sr} - 398C_{Ti} + 0.820C_{Mg} - 1010;$$

$$F_4 = -6.5C_{Ba} + 1987C_{Cr} + 18C_{Rb} - 3.8C_{Sr} - 73C_{Ti} - 0.031C_{Mg} - 159;$$

$$F_5 = -50C_{Ba} + 1696C_{Cr} + 44C_{Rb} + 34C_{Sr} - 26C_{Ti} - 0.056C_{Mg} - 210;$$

$$F_6 = -141C_{Ba} + 438C_{Cr} + 26C_{Rb} + 135C_{Sr} - 222C_{Ti} + 1.250C_{Mg} - 792.$$

При помощи классификационных функций по содержанию 6 элементов-маркеров (Ba, Cr, Mg, Rb, Sr и Ti) в одной из трех частей ягоды – мякоти, кожиче или косточке можно идентифицировать сорт винограда. Для этого достаточно концентрации элементов подставить в уравнения и вычислить их значения. Виноград принадлежит

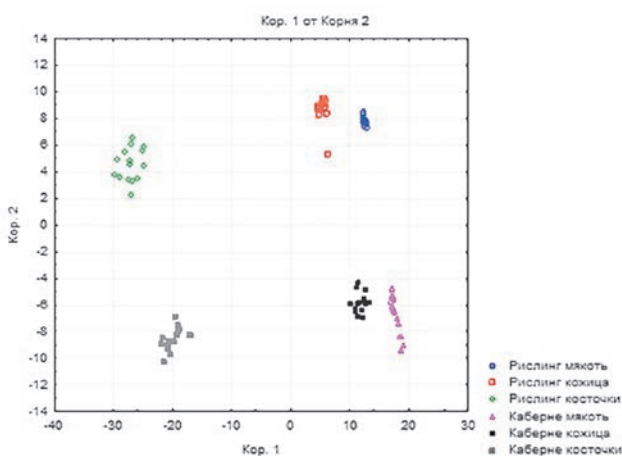


Рис. 3. Диаграмма рассеяния канонических значений для различных частей ягоды винограда

Fig. 3. Diagram of the scattering of canonical values for various parts of the grape berry

Таблица 6

Описательные статистики элементов-маркеров в образцах винограда и различных их частях

Table 6

Descriptive statistics of marker elements in the samples of grapes and their various parts

Испытуемый образец	Элемент	Описательные статистики элементов-маркеров			
		Среднее	Минимум	Максимум	Стандартное отклонение
Рислинг, мякоть	Ba	0.119	0.081	0.165	0.027
	Cr	0.011	0.004	0.015	0.003
	Rb	0.894	0.692	1.026	0.079
	Sr	0.626	0.546	0.719	0.048
	Ti	0.028	0.009	0.035	0.006
	Mg	45.9	44.5	49.7	1.28
Рислинг, кожица	Ba	0.291	0.259	0.341	0.026
	Cr	0.022	0.017	0.053	0.009
	Rb	2.079	1.739	2.383	0.159
	Sr	2.269	2.132	2.491	0.123
	Ti	0.027	0.007	0.047	0.014
	Mg	83.1	74.1	92.1	3.99
Рислинг, косточка	Ba	1.399	1.254	1.661	0.123
	Cr	0.047	0.034	0.060	0.009
	Rb	2.609	2.488	2.730	0.066
	Sr	8.736	8.162	9.509	0.437
	Ti	0.0470	0.022	0.0611	0.005
	Mg	430	404	497	23.58
Каберне, мякоть	Ba	0.149	0.108	0.216	0.039
	Cr	0.0150	0.0129	0.0179	0.016
	Rb	1.418	1.209	1.673	0.158
	Sr	0.563	0.485	0.634	0.053
	Ti	0.016	0.005	0.083	0.021
	Mg	44.1	42.0	46.8	1.60
Каберне, кожица	Ba	0.317	0.255	0.383	0.034
	Cr	0.0157	0.0150	0.0167	0.006
	Rb	2.160	1.587	2.565	0.297
	Sr	2.315	2.042	2.586	0.147
	Ti	0.168	0.106	0.274	0.058
	Mg	54.1	21.8	86.1	20.58
Каберне, косточка	Ba	0.707	0.570	0.852	0.102
	Cr	0.111	0.109	0.122	0.003
	Rb	2.061	1.805	2.312	0.154
	Sr	6.345	5.792	6.672	0.282
	Ti	0.127	0.058	0.222	0.058
	Mg	601	547	668	41.79

к той из 6 групп, а значит и сорту винограда, для которой функция классификации принимает наибольшее значение.

Таким образом, в оптимизированных условиях методом АЭС-ИСП исследован элементный состав частей ягоды винограда сортов Рислинг и Каберне, выращенных на Кубани. Установлено, что концентрации ряда элементов, как в разных частях ягод винограда, так и различных сортах существенно различаются. Выявлены элементы-маркеры (Ba, Cr, Mg Rb, Sr и Ti), позволяющие установить сортовую принадлежность винограда с использованием методов статистического моделирования и данных многоэлементного анализа различных его

частей – ягоды, кожицы, мякоти и косточек. Показана возможность дифференцирования сорта винограда по содержанию элементов-маркеров в различных фрагментах ягоды.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 18-03-00059а) с использованием научного оборудования ЦКП “Эколого-аналитический центр” Кубанского госуниверситета, уникальный идентификатор RFMEFI59317X0008.

ACKNOWLEDGMENTS

The study was supported by the Russian Foundation for Basic Research (Grant No.18-03-00059); experiments were carried out with the use of scientific equipment of the Ecological and Analytical Center of the Kuban State University, unique identifier RFMEFI59317X0008.

ЛИТЕРАТУРА

- Alirzayeva E. G., Shirvani T. S., Alverdiyeva S. M. Heavy metal accumulation in Artemisia and foliaceous lichen species from the Azerbaijan flora // *Forest, Snow and Landscape Research*. 2006. V. 80. № 3. P. 339–348.
- Kachenko A. G., Singh B. Heavy metals contamination in vegetables grown in urban and metal smelter contaminated sites in Australia // *Water, Air, and Soil Pollution*. 2006. V. 169. P. 101–123.
- Characterisation and determination of the geographical origin of wines. part i: Overview / K. Schlesier [et al.] // *European Food Research and Technology*. 2009. V. 230, № 1. P. 1-13.
- Nutrient availability in the Soil and Its Absorption, Transport, and Redistribution in Vines Communications in Soil / M. Silva [et al.] // *Science and Plant Analysis*. 2008. V. 39. P. 1507–1516.
- Chemical composition of grape canes / E.S. Cetin [et al.] // *Industrial Crops and Products*. 2011. V.34. P. 994–998.
- Салманов М.М., Исригова Т.А. Минеральный состав винограда // *Известия вузов. Пищевая технология*. 2004. № 1. С. 54–55.
- Effect of dehydration process on mineral content, phenolic compounds and antioxidant activity of Cabernet Sauvignon and Merlot grapes / C. Panceri [et al.] // *Food Research International*. 2013. № 54. P. 1343–1350.
- Bertoldi D., Larcher R., Bertamini M. Accumulation and Distribution Pattern of Macro- and Microelements and Trace Elements in Vitisvinifera L. cv. Chardonnay Berries // *J. Agric. Food Chem.* 2011. V. 59. P. 7224–7236.
- Coombe, B. G. Research on development and ripening of the grape berry // *American Journal of Enology and Viticulture*. 1992. V. 43. P.101–110.
- ГОСТ 26929-94. Сырье и продукты пищевые. Подготовка проб. Минерализация для определения содержания токсичных элементов. М.: «Стандартинформ», 2010. 12 с.
- Atomic spectrometry methods for wine analysis: A critical evaluation and discussion of recent applications (Short Survey) / G. Grindlay [et al.] // *Analytica Chimica Acta*. 2011. V. 691. № 1-2. P. 18-32.
- Optimization and Validation of a Microwave Digestion Method for Multi-element Characterization of Vranec Wines(Article) / V. Ivanova-Petropulos [et al.] // *Food Analytical Methods*. 2016. V. 9. № 1. P. 48-60.
- Lara R., Cerutti S., Salonia J. Trace element determination of Argentine wines using ETAAS and USN-ICP-OES // *Food and Chemical Toxicology*. 2005. V. 43. P. 293–297.
- Matusiewicz H., Sample Preparation for Trace Element Analysis // *Analytical Chemistry*. 2003. V. 41. P. 193–233.
- Szymczycha, A. Rapid method of elements determination in rye crispbread by ICP OES // *Arabian Journal of Chemistry*. 2017. V. 10. P.3913-3919.
- Tracing the “terroirs” via the elemental composition of leaves, grapes and derived wines in Nebbiolo (*Vitis vinifera* L.) / A. Cugnetto [et al.] // *Scientia Horticulturae*. 2014. V. 172. P. 101–108.
- Исследование взаимосвязи между элементным составом винограда и почвой региона его произрастания

/ В. Титаренко [и др.] // *Аналитика и контроль*. 2016. Т. 20, № 2. С.138–146.

- Kruzlicova D., Fiket Ž., Kniewald G. of Croatian wine varieties using multivariate analysis of data obtained by high resolution ICP-MS analysis // *Food Research International*. 2013. V. 54. P.621-626.
- Classification and differentiation of bottled sweet wines of Canary Islands (Spain) by their metallic content / S. Frías [et al.] // *European Food Research and Technology*. 2001. V. 213. P. 145-149.
- Determination of the geographical origin of Brazilian wines by isotope and mineral analysis / S.V. Dutra [et al.] // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2011. V. 401. P.1571-1576.
- The (87)Sr/(86)Sr strontium isotopic systematics applied to Glera vineyards: a tracer for the geographical origin of the Prosecco/ R. Petrini [et al.] // *Food Chemistry*. 2015. V. 170. P. 138 -144.
- Elemental Composition of Various Sour Cherry and Table Grape Cultivars Using Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry Method (ICP-OES) / S. Mitić [et al.] // *Food Analytical Methods*. 2012. V. 5. P. 279-286.
- Multi-element analysis of south african wines by ICP-MS and their classification according to geographical origin/ P. Coetzee [et al.] // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2011. V. 53. P. 5060–5066.
- Халафян А.А. STATISTICA 6. Математическая статистика с элементами теории вероятностей. М.: Бинном, 2010. 491 с.
- Hill T., Lewicki P. *Statistics methods and applications*. StatSoft, Tulsa, OK, 2007. 719 p.

REFERENCES

- Alirzayeva E. G., Shirvani T. S., Alverdiyeva S. M. Heavy metal accumulation in Artemisia and foliaceous lichen species from the Azerbaijan flora. *For. Snow Landsc. Res.* 2006, vol. 80, no. 3, pp. 339–348.
- Kachenko A. G., Singh B. Heavy metals contamination in vegetables grown in urban and metal smelter contaminated sites in Australia. *Water, Air, and Soil Pollution*. 2006, vol. 169, pp. 101–123. doi: 10.1007/s11270-006-2027-1.
- Schlesier K., Fauhl-Hassek C., Forina M., Cotea V., Kocsi E., Schoula R., van Jaarsveld F., Wittkowski R. Characterisation and determination of the geographical origin of wines. part i: Overview. *European Food Research and Technology*. 2009, V. 230, no. 1, P. 1-13.
- Silva M., Pavan M., Muniz A., Tonin T., Pelizer T. Nutrient Availability in the Soil and Its Absorption, Transport, and Redistribution in Vines Communications in Soil. *Science and Plant Analysis*. 2008, vol. 39, pp. 1507–1516. doi: 10.1080/00103620802006628.
- Cetin, E.S., Altinoz, D., Tarcan, E., Baydar, N.G. Chemical composition of grape canes. *Industrial Crops and Products*. 2011, vol. 34, pp. 994–998. doi: 10.1016/j.indcrop.2011.03.004.
- Salmanov M.M., Isriгова T.A. Mineral'nyi sostav vinograda [Mineral composition of grapes] *Izvestiia vuzov. Pishchevaia tekhnologija* [Proceedings of high schools. Food technology]. 2004, no. 1, pp. 54–55. (in Russian).
- Panceri C. P., Gomes M., De Gois S., Borges D. L.G., Bordinon-Luiz M. T. Effect of dehydration process on mineral content, phenolic compounds and antioxidant activity of Cabernet Sauvignon and Merlot grapes. *Food Research International*. 2013, no. 54, pp. 1343–1350. doi: 10.1016/j.foodres.2013.10.016.
- Bertoldi D., Larcher R., Bertamini M. Accumulation and Distribution Pattern of Macro- and Microelements and Trace

- Elements in *Vitis vinifera* L. cv. Chardonnay Berries. *J. Agric. Food Chem.* 2011, vol. 59, pp. 7224–7236. doi: 10.1021/jf2006003.
9. Coombe B. G. Research on development and ripening of the grape berry. *American Journal of Enology and Viticulture.* 1992, vol. 43, pp.101–110.
10. GOST 26929-94. *Syr'e i produkty pishchevye. Podgotovka prob. Mineralizatsiia dlia opredeleniia sodержaniia toksichnykh elementov* [State Standard 26929-94. Raw materials and food products. Sample preparation. Mineralization for determination of the content of toxic elements]. Moscow, Standartinform Publ., 2010. 12 p. (in Russian).
11. Grindlay G., Mora J., Gras, L., de Loos-Vollebregt M.T.C. Atomic spectrometry methods for wine analysis: A critical evaluation and discussion of recent applications (Short Survey). *Analytica Chimica Acta.* 2011, vol. 691, no. 1-2, pp. 18-32. doi: 10.1016/J.ACA.2011.02.050.
12. Ivanova-Petropulos V., Balabanova, B., Mitrev S., Nedelkovski D., Dimovska V., Gulaboski R. Optimization and Validation of a Microwave Digestion Method for Multi-element Characterization of Vranec Wines (Article). *Food Analytical Methods.* 2016, vol. 9, no. 1. pp. 48-60. doi: 10.1007/S12161-015-0173-z
13. Lara R., Cerutti S., Salonia J. Trace element determination of Argentine wines using ETAAS and USN-ICP-OES. *Food and Chemical Toxicology,* 2005, vol. 43, pp. 293–297. doi: 10.1016/j.fct.2004.10.004
14. Matusiewicz H. Sample Preparation for Trace Element Analysis. *Analytical Chemistry,* 2003, vol. 41, pp. 193–233.
15. Szymczycha A. Rapid method of elements determination in rye crispbread by ICP OES. *Arabian Journal of Chemistry,* 2017, pp.3913-3919. doi: 10.1016/j.arabjc.2014.05.031
16. Cugnetto A., Laura A., Rolle L., Guidoni S., Gerbi V. Tracing the «terroirs» via the elemental composition of leaves, grapes and derived wines in Nebbiolo (*Vitis vinifera* L.). *Scientia Horticulturae.* 2014, vol. 172, pp. 101–108. doi: 10.1016/j.scienta.2014.03.055.
17. Titarenko V.O., Kaunova A.A., Temerdashev Z.A., Popandopulo V.G. Issledovanie vzaimosviazi mezhdu elementnym sostavom vinograda i pochvoi regiona ego proizrastaniia [Investigation of the correlation between the elemental content of grapes and the soil of the region of its growth]. *Analitika i kontrol'* [Analytics and control]. 2016, vol. 20, no. 2, pp. 138–146. doi: 10.15826/analitika.2016.20.2.004 (in Russian).
18. Kruzlicova D., Fiket Ž., Kneepad G. Classification of Croatian wine varieties using multivariate analysis of data obtained by high resolution ICP-MS analysis. *Food Research International,* 2013, vol. 54, pp.621-626. doi: 10.1016/j.foodres.2013.07.053
19. Frias S., Trujillo J.P., Peña E.M., Conde J.E. Classification and differentiation of bottled sweet wines of Canary Islands (Spain) by their metallic content. *European Food Research and Technology,* 2001, vol. 213, pp. 145-149. doi: 10.1007/s002170100344
20. Dutra S.V., Adami L., Marcon A.R., Carnieli G.J., Roani C.A., Spinelli F.R., Leonardelli S., Ducatti C., Moreira M.Z., Vanderlinde R. Determination of the geographical origin of Brazilian wines by isotope and mineral analysis *Analytical and Bioanalytical Chemistry,* 2011, vol. 401, pp. 1571-1576. doi: 10.1007/s00216-011-5181-2
21. Petrini R., Sansone L., FSlejko F., Buccianti A., Marcuzzo P., Tomasi D. The (87)Sr/(86)Sr strontium isotopic systematics applied to Glera vineyards: a tracer for the geographical origin of the Prosecco. *Food Chemistry,* 2015, vol. 170, pp. 138-144. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.08.051.
22. Mitić S., Obradović M., Mitić M., Kostić D., Pavlović A., Tošić S., Stojković M. Elemental Composition of Various Sour Cherry and Table Grape Cultivars Using Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry Method (ICP-OES). *Food Analytical Methods,* 2012, vol. 5, pp. 279-286. doi: 10.1007/s12161-011-9232-2
23. Coetzee P., Steffens E., Eiselen J., Augustyn P., Balcaen L. Multi-element analysis of south african wines by ICP-MS and their classification according to geographical origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 2011, vol. 53, pp. 5060–5066. doi: 10.1021/jf048268n
24. Khalaphyan A.A. STATISTICA 6. Matematicheskaia statistika s elementami teorii veroiatnostei [STATISTICA 6. Mathematical statistics with elements of theory of probability]. Moscow: Binom Publ, 2010, 491 p. (in Russian).
25. Hill T., Lewicki P. Statistics methods and applications. StatSoft, Tulsa, OK, 2007. 719 p.