

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации  
ФГБОУ ВО «Кубанский государственный технологический университет»  
(ФГБОУ ВО «КубГТУ»)

На правах рукописи

**ЛИСОВЕЦ УЛЬЯНА АЛЕКСАНДРОВНА**

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ БЕЛЫХ СТОЛОВЫХ ВИН  
ПУТЕМ РЕГУЛИРОВАНИЯ АВТОЛИЗА ВИННЫХ ДРОЖЖЕЙ**

Специальность: 05.18.01 – Технология обработки, хранения и переработки  
злаковых, бобовых культур, крупиных продуктов,  
плодоовощной продукции и виноградарства

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата технических наук

Научный руководитель:  
д-р техн. наук, профессор  
Н.М. Агеева

Краснодар – 2019

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
1 АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР ОТЕЧЕСТВЕННОЙ И ЗАРУБЕЖНОЙ НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЙ И ПАТЕНТНО-ИНФОРМАЦИОННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ .....	9
1.1 Понятие и сущность батонажа .....	9
1.2 Современные взгляды на целесообразность проведения батонажа при производстве белых столовых вин.....	11
1.3 Биохимические процессы, протекающие при выдержке виноматериалов на дрожжевых осадках .....	14
1.3.1 Понятие и механизм автолиза винных дрожжей, его применение в винодельческой промышленности.....	15
1.3.2 Выделение азотистых веществ в процессе алкогольного брожения и при выдержке вина на дрожжах .....	22
1.3.3 Влияние компонентов древесины дуба на изменение ароматообразующих компонентов вина .....	33
1.4 Выводы по главе .....	34
2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	36
2.1 Объекты исследований.....	36
2.2 Методы исследований .....	36
3 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....	39
3.1 Исследование массообменных процессов между дрожжевой клеткой и виноматериалом при батонаже.....	39
3.1.1 Влияние новых рас активных сухих дрожжей на химический состав белых столовых виноматериалов.....	39
3.1.2 Динамика накопления аминного азота .....	43
3.1.3 Динамика накопления аминокислот .....	57
3.1.4 Динамика накопления липидов .....	70
3.1.5 Динамика выделения ферментов из дрожжевой клетки в среду .....	75
3.1.5.1 Исследование секреции протеиназ и пектиназ из дрожжевой клетки в среду (виноматериал) при выдержке на дрожжевом осадке .....	75
3.1.5.2 Определение активности ферментов различных рас винных дрожжей	82

3.1.5.3 Влияние ферментных систем винных дрожжей на концентрацию биополимеров в виноматериале .....	87
3.1.6 Изменение концентрации белка при батонаже в технологии белых столовых вин .....	91
3.2 Динамика изменения дегустационной оценки .....	97
3.3 Изменение структуры клеток винных дрожжей при батонаже .....	101
3.4. Усовершенствованная технология белых столовых вин с применением батонажа.....	107
3.5 Экономический эффект от внедрения усовершенствованной технологии производства белых столовых вин.....	110
ВЫВОДЫ.....	112
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	115
ПРИЛОЖЕНИЕ А .....	129
ПРИЛОЖЕНИЕ Б.....	132
ПРИЛОЖЕНИЕ В .....	134
ПРИЛОЖЕНИЕ Г.....	136

## ВВЕДЕНИЕ

### **Актуальность работы.**

Био- и нанотехнологии, а также технологии микробного синтеза, основанные на широком и многогранном использовании биологического и биохимического потенциала микроорганизмов, в том числе их синтезирующие и гидролизующие способности в соответствии с теорией экономиста Николая Дмитриевича Кондратьева относятся к шестому технологическому укладу, на который перешло большинство Европейских государств, в то время как Россия находится на пятом технологическом укладе [1].

Виноделие невозможно представить без жизнедеятельности винных дрожжей. В соответствии с современной нормативной документацией [2], вино – это продукт, полученный путем полного или неполного сбраживания виноградного сусла с применением винных дрожжей. Поэтому вино – это продукт биотехнологии и все последующие совершенствования или модификации производства основываются на внедрении элементов биотехнологий, к числу которых и относится такой технологический прием, как батонаж, применяемый на протяжении многих лет французскими виноделами при производстве столовых и игристых вин. Его сущность заключается в том, что осадок винных дрожжей, находящийся на дне резервуара, периодически взмучивают специальным шестом – батонном. После перемешивания, постепенно оседая на дно, осадок улучшает структуру виноматериала и насыщает его вкусоароматическими веществами, как винных дрожжей, так и веществами, образующимися в результате вторичных реакций между компонентами вина и дрожжей.

В России критерии батонажа до сих пор не установлены, за исключением органолептической характеристики вина. Между тем, излишнее насыщение вина азотистыми веществами, липидами и полисахаридами винных дрожжей приводит к формированию пороков и трудно устранимых обратимых и необратимых коллоидных помутнений. На их устранение требуются колоссальные финансовые

затраты, в т. ч. на энергоресурсы, обработку дорогостоящими импортными ферментными препаратами. При этом биотехнологические особенности винных дрожжей – их собственные ферментные системы, активные белки, полисахариды – не задействованы в технологическом процессе. Дрожжевым клеткам необходимо создать такие условия, при которых эти ценные для вина компоненты будут переходить из клетки в среду – виноматериал и катализировать процессы гидролиза высокомолекулярных трудноудаляемых соединений вина. В связи с этим, обоснование критериев и проведения регулируемого батонажа является актуальной задачей биотехнологии виноделия.

Работа выполнялась в рамках инициативной комплексной научно-исследовательской работы кафедры Технологии виноделия и бродильных производств имени А.А. Мержаниана КубГТУ № 1.5.16-20 «Совершенствование технологии и контроля качества виноградных, фруктовых вин и напитков, ликероводочных изделий пива и других продуктов» (рег. № АААА-А16-116122110142-2).

**Научная новизна.** Теоретически обоснована и доказана целесообразность применения батонажа в технологии белых столовых вин. Получены новые сведения о закономерностях изменения концентраций азотистых соединений, липидов, белков в зависимости от продолжительности, параметров и режимов батонажа. Впервые получены экспериментальные данные об активности протеиназ и пектиназ в дрожжевой биомассе отечественных и импортных рас дрожжей и их секреции из дрожжевой клетки в виноматериал. Установлены критерии, подтверждающие момент завершения батонажа. Техническая новизна разработок подтверждена патентом РФ № 2625032 «Способ производства столовых виноматериалов» (Приложение А).

**Практическая значимость.** Разработаны параметры и режимы проведения батонажа. Разработана технологическая инструкция ТИ 9171-109-02067862-2018 на производство столового белого вина с проведением технологического приема – батонажа (Приложение Б).

**Реализация результатов исследования.** Способ производства столовых виноматериалов внедрен в производство на ОАО «АПФ «Фанагория». Внедрение способа производства столовых виноматериалов с проведением их контакта с дрожжевой биомассой и периодическим перемешиванием (батонаж) обеспечил улучшение качества столовых вин, их органолептических показателей, ускорил процесс метаболизма винных дрожжей, обогатил виноматериал ферментами дрожжевой клетки, что привело к сокращению расходов вспомогательных материалов и увеличению выхода виноматериалов на 0,8-1,5 %. Фактический экономический эффект составил 132,6 тыс. рублей при объеме внедрения – 100 тыс. дал (Приложение В).

При дальнейшем внедрении на предприятиях Краснодарского края ожидаемый экономический эффект производства белого столового виноматериала составит 22500 руб. при годовом объеме выпускаемой продукции – 1000 дал или 22,5 руб./дал.

**Апробация работы.** Основные положения диссертационной работы и результаты исследований доложены, обсуждены и одобрены на конференциях:

– XXI Международная научно-практическая конференция «Научное обозрение физико-математических и технических наук в XXI веке» (г. Москва, 2015 г.);

– XVI Международная научно-практическая конференция «Научные перспективы XXI века. Достижения и перспективы нового столетия» (г. Новосибирск, 2015 г.);

– IX International scientific-practical conference «The Strategies of Modern Science Development» (North Charleston, SC, USA, 2015) (IX Международная научно-практическая конференция «Стратегии развития мировой науки» (Северный Чарльстон, Южная Каролина, США, 2015));

– XIX Международная конференция «Современные концепции научных исследований» (г. Москва, 2015 г.);

– VI International scientific conference «Global Science and Innovation» (Chicago, USA, 2015) (VI Международная научная конференция «Глобальная наука и инновации» (Чикаго, США, 2015 г.));

– II Международная научно-практическая конференция «Инновации в индустрии питания и сервисе» (г. Краснодар, 2016 г.);

– Международная научно-практическая конференция «Наукоемкие, прорывные технологии в пищевой промышленности» (г. Краснодар, 2016 г.).

Результаты работы доложены на VIII Конкурсе молодежных научных и инновационных проектов «InnoTech 2018» (КубГТУ, Краснодар, 2018, диплом I степени).

**Личное участие автора.** Выбор направления исследований и формулировка задач проводились совместно с научным руководителем профессором Н.М. Агеевой. Диссертантом был сформирован план исследования, проведены эксперименты, осуществлена статическая обработка и проанализированы полученные результаты.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

- параметры и режимы проведения батонажа;
- новые экспериментальные данные об изменении физико-химических показателей белых столовых виноматериалов в результате батонажа;
- технология белых столовых виноматериалов с применением батонажа.

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 20 научных работ, в том числе 6 статей в журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России (из них 2 статьи в базе данных Scopus), 2 монографии, 7 материалов конференций, получен патент РФ на изобретение.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, аналитического обзора отечественной и зарубежной научно-технической и патентно-информационной литературы, объектов и методов исследования, экспериментальной части, оценки экономической эффективности производства разработанной винодельческой продукции, выводов, списка литературы, а также

приложений. Работа изложена на 141 странице компьютерного текста, включает 18 таблиц и 32 рисунка. Список литературных источников содержит 131 наименование, в том числе 45 – зарубежных авторов.

# 1 АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР ОТЕЧЕСТВЕННОЙ И ЗАРУБЕЖНОЙ НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЙ И ПАТЕНТНО-ИНФОРМАЦИОННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

## 1.1 Понятие и сущность батонажа

Алкогольное брожение виноградного сусла является основным процессом в виноделии и от того, как будет проведен этот процесс, во многом зависит качество и стабильность получаемого вина. В результате спиртового брожения образуются различные химические соединения, сообщающие продукту характерный вкус и букет. Ход процесса брожения и качество получаемого виноматериала зависит от расы дрожжей, температуры, аэрации, исходного содержания различных веществ в сусле, рН среды [3].

Брожение обычно проводят на чистых селекционных культурах дрожжей. В последнее время наряду с жидкими разводками дрожжей используются активные сухие дрожжи, имеющие ряд преимуществ (быстрота и простота приготовления, сокращение затрат производства и производственных площадей, получение необходимого количества биомассы при активном физиологическом состоянии). Внедрение сухих дрожжей стало возможным благодаря уникальному свойству микроорганизмов переходить в состояние анабиоза при высушивании, сохраняя жизнеспособность при хранении и восстанавливать свою жизнедеятельность при увлажнении.

При спиртовом брожении в процессе метаболизма дрожжевой клетки во внутриклеточном пространстве накапливаются различные соединения, в том числе ферменты [4]. По мере сбраживания сахаров количество угнетенных и мертвых клеток увеличивается, благодаря чему начинаются процессы литического распада (автолиз). Гибель дрожжевой клетки может происходить мгновенно, например при нагревании, и медленно при длительном контакте

дрожжей с виноматериалом. В первом случае строение клетки после смерти не меняется, при постепенном отмирании происходят изменения, называемые некробиозом. Механизм старения и отмирания клеток по-прежнему является спорным и далеко не ясным. Автолиз происходит особенно интенсивно в тех случаях, когда жизнь клетки прекращается, внутриклеточные ферменты сохраняются, а клеточная мембрана становится более проницаемой для них [5].

**Батонаж** (от фран. *bâtonnage*) – это выдержка виноматериалов на дрожжевом осадке или на биомассе винных дрожжей при определенных режимах – температуре, продолжительности контакта и перемешивании. Его сущность заключается в том, что осадок винных дрожжей, находящийся на дне резервуара, периодически взмучивают специальным шестом – батоном (от фран. *Bâton*). После перемешивания осадок, постепенно оседая на дно, улучшает структуру виноматериала и насыщает его как вкусоароматическими веществами, так и веществами, образующимися в результате вторичных реакций между компонентами вина и дрожжей [6].

Цель данного технологического приема:

- способствовать регулированию количества восстановленных ароматических веществ;
- способствовать высвобождению из дрожжевых клеток таких веществ, как полисахариды, аминокислоты, липиды и сложные эфиры;
- способствовать протеканию побочных реакций преимущественно восстановительного характера;
- придать вину насыщенный сливочный вкус;
- усилить ассимиляцию танинов древесины дуба в случае выдержки вина в бочках [7].

Дрожжевой осадок представляет собой мертвые дрожжевые клетки и другие частицы, которые остаются в вине после ферментации. Они оседают в виде осадка в нижней части бродительного резервуара. Как только эти мертвые дрожжевые клетки (осадок) разрушаются, они высвобождают всевозможные соединения,

такие как маннопротеины, аминокислоты, полисахариды и жирные кислоты, которые взаимодействуют со сбродившим виноматериалом. Это взаимодействие придает виноматериалу более сложную структуру и букет.

Так как дрожжевой осадок поглощает кислород, то выдержка на осадке предотвращает нежелательное окисление виноматериала. Но виноматериалу необходим кислород. Если осадок остался не взмученным и поглотил весь кислород, тогда возникает риск восстановления и образования нежелательных восстановленных соединений таких, как сероводород и меркаптаны. Эти соединения обладают зловонными тонами и пагубны для качества вина. Сероводород имеет запах тухлых яиц или гнилого чеснока, а меркаптаны имеют запах жженой резины или переваренной капусты.

Виноматериалы, которые выдерживаются в деревянной бочке, менее подвержены риску развития нежелательных восстановленных соединений, так как всегда есть доступ кислорода через дуб. А для вин, хранящихся в сосудах из нержавеющей стали или других инертных резервуарах, батонаж является важной частью процесса выдержки на осадке, обеспечивает хорошее состояние виноматериала до дальнейших обработок [8].

## **1.2 Современные взгляды на целесообразность проведения батонажа при производстве белых столовых вин**

Среди европейских виноделов распространено мнение, что длительное пребывание молодого вина на дрожжевой гуще способствует значительному улучшению вкуса и аромата вина. Нередко приходится слышать, что «дрожжи питают вино» [9], обогащают его продуктами автолиза и придают характерные сортовые признаки.

Процесс батонажа приемлем при производстве белых вин, поскольку вино обогащается белками, которые связывают танины. По мнению французских виноделов для красных вин процесс выдержки на дрожжевом осадке существенно

влияет на потенциал выдержки вина, приводя к снижению концентрации полифенолов. По этой причине красные вина, как правило, не выдерживаются данным способом, в отличие от белых вин. Между тем многие вопросы о применении батонажа в технологии белых столовых вин также требуют дальнейших исследований, в первую очередь это обоснование и разработка режимов, исследование продуктов массообменных процессов и т.д. [10].

Выдержка на осадке и особенно батонаж является обычной практикой для белого бургундского и других вин Шардоне, при производстве марочных вин, когда осадок еще здоров (т.е. без гнили, плесени, ботритиса или других заболеваний кожицы виноградной ягоды). Сторонники батонажа считают, что он «обогащает» виноматериал лучшими ароматическими веществами, способствует восстановленным, а не окислительным реакциям в бочке и т.д. Другие же утверждают, что эта операция может стать причиной появления нежелательных ароматических веществ в виноматериале, а также ухудшить вкус вина, зависящий от свойств почвы виноградника, и способствовать тому, что все вина будут одинаковыми на вкус [8, 9].

На практике батонаж проводится путем удаления пробки из бочки и помещения в нее устройства (батона) для активного перемешивания осадка на дне бочки. Батонаж также может быть проведен путем вращения бочки без удаления пробки. До недавнего времени последний способ батонажа был относительно редким, известным пользователем которого был Bouchard. John Gilman, автор «The View from the Cellar» [11], сообщает, что сейчас самый распространенный метод проведения батонажа – это вращение закрытой бочки. Существуют также специальные подставки для бочек, которые позволяют вращать ее, тем самым осуществляя процесс батонажа.

Батонаж является по сути процессом окисления: он «дегазирует» вино в том смысле, что перемешивание стимулирует высвобождение свободного  $\text{SO}_2$ , а  $\text{CO}_2$  остается в связанном состоянии в вине (который защищает вино от окисления), и, как следствие, открытая пробка и процесс перемешивания одновременно

обогащают кислородом виноматериал и оставшееся незаполненное пространство бочки. Pierre Rovani и Jean-Marie Guffens утверждают, что батонаж – это скорее восстановительный процесс, чем окислительный [7, 8]. Иногда батонаж в виноделии называют еще процессом контролируемого обогащения кислородом. Чем чаще проводится батонаж, тем больше будет растворенного кислорода и больше образовано ацетальдегидов в виноматериале. К сожалению, на сегодняшний день нет эмпирических исследований по линейной зависимости между частотой проведения батонажа и степенью окисления. Кроме того, окислительное действие батонажа может быть компенсировано в некоторой степени путем поддерживания высокого уровня содержания  $SO_2$  [12].

Используемые в Бургундии режимы проведения батонажа значительно отличаются. Одни производители перемешивают осадок в процессе основного брожения в бочке. Другие проводят батонаж в период между завершением основного брожения и началом яблочно-молочного брожения (далее ЯМБ), третьи – в процессе ЯМБ, остальные – в течение нескольких недель или месяцев после завершения ЯМБ [10].

Еще один интересующий момент – частота перемешивания. После завершения основного брожения некоторые производители перемешивают виноматериал несколько раз до завершения ЯМБ. Другие перемешивают осадок три раза в неделю во время завершения ЯМБ, а в некоторых случаях и до 15 месяцев с даты сбора урожая. Третьи изменяют частоту и продолжительность перемешивания дрожжевого осадка в соответствии с различными марочными условиями [7, 8, 10].

Во Франции батонаж был широко применен при изготовлении марочных вин 1995, 1996 и 1999 гг. Вместо многократного открытия бочки для перемешивания осадка Bouchard изменил свой метод ведения батонажа – вращение бочки вперед и назад, тем самым осадок смешивался с вином. Le Moine [12] перемешивает осадок путем введения газа  $CO_2$  в нижнюю часть бочки с помощью трубки. В 1999 году за счет очень высокой урожайности здорового

винограда многие виноделы снова увидели пользу от проведения экстенсивного батонажа в целях обогащения вина продуктами автолиза дрожжей. Некоторые виноделы, например, Sauzet и Pierre Morey, стали больше применять батонаж или продлевали срок перемешивания, по сравнению с урожаем 1996 года. Jadot, который заявил о непроведении батонажа в винах 1996 года урожая, занялся батонажем в 1999 году.

Многие бургундские производители утверждают, что чрезмерное перемешивание может вредно сказаться на качестве вина – способно снизить индивидуальные свойства, утонченность и изысканность вина. Им кажется, что вина, изготовленные с помощью этой технологии, не поддаются выдержке.

Винодел Jean-Marc Roulot (Мерсо, Бургундия) [11] считает, что чрезмерное перемешивание осадка может повлиять на утонченность вина, изысканность и сложность вкуса, и, следовательно, необходим умеренный батонаж.

Franzois Jobard (Мерсо, Бургундия) оставляет свои вина на плотном осадке на год, редко его перемешивая, и никогда не перемешивает тонкий осадок, пока вино находится в бочке. Он считает, что перемешивание приводит к ускорению процессов изменения в бутылке из-за остаточного диоксида углерода (оставшегося после брожения), который защищает вино от окисления.

Louise Trobuchet из Чартона полагает, что «чрезмерное перемешивание осадка придает вину утонченность и типичность больше, чем когда-либо мог это сделать дуб» [10-12].

### **1.3 Биохимические процессы, протекающие при выдержке виноматериалов на дрожжевых осадках**

В процессе брожения вина, обеспечиваемом винными дрожжами, на дне бродильной ёмкости образуется дрожжевой осадок. Некоторые виноделы считают, что, не сливая вино с дрожжевого осадка, можно значительно улучшить его качество. Мнения же учёных о целесообразности длительного контакта вина с

дрожжевой биомассой неоднозначны. Для того чтобы разобраться в этом вопросе, необходимо понимать биохимические процессы, которые происходят в винноматериале, а конкретно, в дрожжевом осадке на всех стадиях брожения.

### **1.3.1 Понятие и механизм автолиза винных дрожжей, его применение в винодельческой промышленности**

В процессе сбраживания сусле винные дрожжи активно размножаются, растут и погибают, длительное время находятся в стационарной фазе развития, в ходе которой клетки ингибируются, начинаются автолитические процессы. В большей части из отмерших клеток винных дрожжей и образуется осадок. Одной из причин отмирания дрожжей в винной среде является сокращение количества питательных веществ. При этом винные дрожжи опускаются на дно бродильной ёмкости и за счёт накопленных гликогенов некоторое время сохраняют свою жизнедеятельность [12]. По мере расходования накопленных запасов питательных веществ винные дрожжи переходят в стадию голодания, угнетения и отмирания, после чего начинается процесс автолиза (от др.-греч. αὐτός – сам и λύσις – разложение, распад) – саморастворение дрожжей под действием их собственных гидролитических ферментов, разрушающих структурные молекулы. Вследствие этого в окружающую среду (виноматериал) поступают эндоферменты дрожжей, которые у живых дрожжей не могут пройти через оболочки клеток [13], а также пуриновые основания, аминокислоты, аммиак и другие продукты автолиза. Являясь питательной средой для микроорганизмов, присутствующих в осадке дрожжей, вещества эти содействуют их размножению, а некоторые из них способствуют распаду дрожжевых клеток на мельчайшие частицы.

Различные микроорганизмы, находясь в бродящем сусле, не развиваются, так как усиленная работа дрожжей, сопровождающаяся выделением CO<sub>2</sub>, препятствует этому. Когда брожение заканчивается, вино успокаивается, разлагающиеся дрожжи предоставляют микроорганизмам все необходимые

питательные вещества и при благоприятных температурных и других условиях они могут получить большое развитие. При таких обстоятельствах оставлять вино на осадке нельзя, его надо как можно скорее «снять с дрожжей» [9].

Продолжительный контакт виноматериала с дрожжевым осадком вследствие перехода в него продуктов автолиза дрожжей может вызвать в нем неприятные привкусы, в том числе производные сероводорода. Нередко отмечаемый при дегустациях молодых вин неприятный дрожжевой привкус и запах служит показателем того, что вино долго оставалось при повышенной температуре в соприкосновении с разлагающимися дрожжами [14]. При этом продукты распада дрожжевых клеток могут спровоцировать как необратимые, так и обратимые трудноустраняемые коллоидные помутнения, избавиться от которых можно будет только внесением в вино дополнительных веществ – коагулянтов, которые наиболее трудно устраняются. Во избежание всех этих факторов осевший на дно бродильной емкости осадок необходимо регулярно перемешивать, т.е. проводить батонаж.

Автолиз может наступить естественно после окончания спиртового брожения в результате длительного голодания и затем отмирания дрожжей, либо может быть вызван искусственно нагреванием дрожжей или другими способами. Вещества, выделяемые дрожжами при автолизе, называют автолизатами (лизатами). Они оказывают заметное влияние на химический состав и органолептические качества вина [5].

Автолиз дрожжей используется в виноделии для ускорения созревания и повышения качества шампанских, столовых и крепленых вин. Французский энолог Мартини впервые (1926) указал на положительное влияние автолиза дрожжей при созревании бутылочного шампанского. В дальнейшем автолиз дрожжей изучен Н.И. Сисакяном, А.К. Родопуло, Е.М. Поповой, Г.Г. Агабальянцем, В.М. Лозой, В.И. Ниловым, Е.Н. Датунашвили, А.П. Смирновой, С.П. Авакянцем и др. [15-24]. Условие автолиза – смерть клеток при сохранении активности внутриклеточных ферментов.

Механизм автолиза дрожжей в вине заключается в следующем: отсутствие кислорода, сбраживаемых углеводов и повышение концентрации продуктов анаэробного обмена приводит к нарушению клеточного метаболизма. При отмирании клеток барьерные функции клеточных мембран исчезают. Выдержка дрожжей в вине обуславливает проникновение через мембрану компонентов вина, из-за чего изменяется внутриклеточный водородный показатель (рН) и состояние цитоплазматических гелей, вследствие чего в дрожжевых клетках активируются протеолитические ферменты. Протеиназа и пептидаза катализируют распад белков и ферментов, выполняющих в клетке важные биологические функции, что нарушает координационную связь и клеточную регуляцию ферментов; начинается разрушение внутриклеточных органелл [25].

Гидролитические процессы приводят к распаду цитоплазматических комплексов белков с липидами и полисахаридами, в результате чего в автолизирующихся клетках дрожжей появляются липидные гранулы. Размер клетки сильно уменьшается, но клеточная стенка не разрушается. Форма дрожжевой клетки из лимonoобразной становится «сморчкообразной» [23].

Наряду с биохимическими сдвигами катаболического характера в начале процесса автолиза происходят анаболические изменения: синтезируются новые белки, ферменты, повышается прочность клеточной стенки. Наличие разнообразных питательных веществ в вине способствует длительному сохранению жизнеспособности винных дрожжей. В клетках даже после двух-трехлетней выдержки сохраняют активность многие ферменты. Это объясняется тем, что низкая величина рН вина (например, рН 3) не является оптимальной для прохождения автолиза [26]. Направленность автолиза дрожжей определена влиянием эндогенных и экзогенных факторов. Эндогенные факторы (генетические особенности дрожжей, физиологическое состояние клеток, активность внутриклеточных ферментов, структура цитоплазмы и мембран и др.) определяют автолизуемость клеток. Экзогенные факторы (состав среды, рН, активность гидролитических ферментов в вине) также влияют на процесс

автолиза. Направленность автолитических процессов и состав продуктов автолиза дрожжей зависят от температуры. Например, при выдержке вина при 10-15 °С процесс автолиза происходит медленно, нагревание вина до 40-50 °С вызывает быструю гибель клетки [27, 28]. При автолизе дрожжевые клетки выделяют в вино ферменты (протеолитические,  $\beta$ -фруктофуранозидазу, дегидрогеназы), азотистые вещества (белки, пептиды, аминокислоты, нуклеиновые кислоты), фосфорные соединения, липиды, полисахариды, ароматообразующие вещества (эфир, терпеноиды, жирные кислоты) и др. Под действием активных гидролаз и оксидоредуктаз, находящихся в клетках, в их цитоплазме и на отдельных органоидах протекают ферментативные реакции, т.е. автолизирующиеся клетки служат центрами ферментативных реакций в вине. Таким образом, не только продукты автолиза дрожжей, но и ферментативная трансформация компонентов вина внутри клеток обуславливают формирование специфических тонов в винах и шампанском [29].

Наиболее обычным и хорошо изученным способом автолиза является длительное оставление вина на осадочных дрожжах (3-6 месяцев) после окончания спиртового брожения. Полученные таким образом виноматериалы носят название лизатных и находят наибольшее применение в производстве резервуарного шампанского [30].

На результаты длительной выдержки вина на дрожжах влияет целый ряд факторов, прежде всего аэрация. При выдержке вина на дрожжах без доступа воздуха получают виноматериалы, характерные для качественных шампанских вин. Напротив, в присутствии достаточного количества кислорода виноматериалы приобретают свойства, типичные для хересных вин. Следует отметить, что обогащение лизатных виноматериалов продуктами распада дрожжей создает благоприятные условия для развития посторонней микрофлоры, в частности молочнокислых и уксуснокислых бактерий. Поэтому лизатная выдержка требует соблюдения ряда условий и строгого микробиологического контроля [31].

Во-первых, температура хранения вина должна быть небольшой (12-15 °С).

Во-вторых, рН вина желательно поддерживать в пределах 3,0-3,2, но не более 3,5. Технологические емкости лучше использовать крупные, что уменьшает риск окисления. Время выдержки на дрожжах не должно быть более шести месяцев (обычно же виноматериалы снимают с дрожжевого осадка вскоре после окончания бурного брожения). При изготовлении лизатных виноматериалов следует применять чистые культуры дрожжей и умеренную сульфитацию. Раса применяемых для лизатной выдержки дрожжей не играет значительной роли, хотя есть указание, что лучшие результаты дает выдержка на тех же дрожжах, на которых вино было сброжено. Замечено, что лизатные вина более стабильны в смысле выпадения винного камня, очевидно вследствие обогащения их защитными коллоидами. Лизатная выдержка обогащает вина азотистыми веществами, причем чем больше их содержало сброженное вино, тем короче может быть срок выдержки на дрожжах [32, 33].

Второй, часто применяемый, особенно для изготовления ферментных препаратов, прием автолиза состоит в нагревании дрожжей или вина вместе с дрожжами. При этом, как правило, чем выше температура нагревания, тем меньше должна быть его длительность. Чем больше в вине дрожжей, тем меньше должен быть срок нагрева. В качестве оптимальной концентрации дрожжей называют 5 г/дм<sup>3</sup>. Различные исследователи рекомендуют различные режимы нагрева, например, 3-5 сут при 45 °С, 12 ч при 60 °С, 30 мин при 120 °С.

Иногда пользуются и другими способами для инактивации дрожжей, например, с помощью замораживания их до температуры жидкого воздуха (минус 181 °С) с последующим быстрым оттаиванием или действием ультразвука. Преимуществом таких искусственных приемов автолиза являются: быстрые результаты, удобство управления приемами и их контроля, отсутствие побочных явлений и развития посторонней микрофлоры [34].

Наибольшее применение находят лизатные виноматериалы в шампанском производстве. При изготовлении бутылочного шампанского автолиз дрожжей происходит в период двух-трехлетней выдержки шампанского вина в

бутылках в анаэробных условиях и придает ему желательные в шампанском лизатные тона. При современном способе резервуарной шампанзации этого не происходит, так как весь период шампанзации проходит примерно за один месяц. Поэтому лизатные виноматериалы вводят в купаж для вторичного брожения (шампанзации) [35].

Следует также отметить, что автолиз дрожжей имеет место и в ходе непрерывной шампанзации вина, в насадках последних резервуаров (ферментаторов). При этом в 4-20 раз повышается активность ряда ферментов, возрастает содержание поверхностно-активных веществ. Все это благоприятно влияет на качество шампанского.

Лизатные виноматериалы применяются с успехом при производстве белых столовых вин. Доказано их положительное значение также для вин крепких и десертных [36].

Биохимические процессы, сопровождающие процесс автолиза дрожжей, были изучены А.И. Опариным [37] и сотрудниками в шампанском при послетиражной выдержке. Было установлено, что после окончания вторичного брожения дрожжи отмирают и, автолизируясь, обогащают шампанское азотистыми веществами. В первые 100 дней выдержки после окончания вторичного брожения содержание аминного азота несколько увеличивается, а затем наблюдается интенсификация биохимических процессов, при которых содержание общего азота вначале падает, а потом увеличивается. После годичной выдержки на дрожжах биохимические процессы замедляются и содержание азотистых веществ мало изменяется. Таким образом, выдержка на дрожжах приводит к обогащению вина ферментами, катализирующими процессы, ускоряющие созревание шампанского [38].

При контакте белых и красных вин с дрожжами намного увеличивается содержание в них аминокислот, амидов, пептидов и фосфора. При этом количество аминного азота в красных винах увеличивается в 1,7 раза, а фосфора – в 1,2-1,8 раза.

После месячной выдержки вина на дрожжах содержание аминокислот увеличивается на 30 %, через два месяца – на 65 % и через три месяца – на 67 %. После трехмесячной выдержки на дрожжах наблюдается выделение аммиака. При контакте с дрожжами в вине накапливаются следующие аминокислоты: аспарагиновая, валин, глицин, лейцин, изолейцин, лизин, метионин, серин, треонин, тирозин, триптофан, фенилаланин и пролин.

Процесс автолиза зависит от температуры: при  $\pm 5$  °С автолиз почти не происходит, при 18 °С он неактивен, при 40 °С протекает интенсивно и заканчивается примерно через сутки [39].

Наличие в среде сахара тормозит автолиз, перемешивание ускоряет его.

Исследованиями А.М. Фролова-Багреева и Е.Г. Андреевской [40, 41] установлено, что вино, снятое с дрожжей через три месяца после начала брожения в бочках, резко отличалось своими высокими качествами от контрольного вина, снятого с дрожжей в обычное время. Разлитое в бутылки после годичной выдержки, оно развило очень высокие качества белого столового вина. Отсюда следует заключение, что длительный контакт с дрожжевыми осадками может также дать положительные результаты и значительно улучшить вкусовые качества белых столовых вин [42].

Исследования В.И. Нилова [20] говорят не в пользу приемов обогащения автолизатами столовых вин. Эти исследования показывают, что продукты автолиза являются источниками окислительных процессов, происходящих в винах и порождающих окисленность столовых вин, столь резко понижающую их качество.

Нельзя также не учитывать многолетний опыт виноделов Рейна и Мозеля, которые показали, что длительное оставление вин на дрожжевых осадках и обогащение их автолизатами ведет к понижению стойкости вин и крайне затрудняет их осветление. Это обстоятельство является причиной того, что раннее снятие вина с дрожжей при первых признаках осветления является общепринятым и обязательным приемом на Рейне и Мозеле [9, 14].

Учитывая, что обогащение автолизатами шампанских виноматериалов при применении в дальнейшей обработке специальных приемов для их осветления дает в производстве положительные результаты, не следует забывать о той опасности, которой подвергаются вина, находящиеся в соприкосновении с разлагающейся массой дрожжей, богатой различными вредными для вина микроорганизмами (пленчатыми дрожжами, дрожжевыми грибами – бретаномицес и др.). Поэтому винодел должен со всей серьезностью отнестись к тем соображениям, которые высказываются противниками длительного контакта вина с дрожжевыми осадками и которые вытекают также из практики [43, 44].

Непременным условием длительной выдержки вина на дрожжах является проведение рационального виноделия шампанских виноматериалов с применением при брожении сульфитирования и селекционированных рас дрожжей, что гарантирует получение вполне выбродившего, здорового вина с рН не выше 3,3. Не менее важно создать соответствующие температурные условия (около 12 °С) в тех помещениях, где выдерживают вина на дрожжевых осадках. Вполне понятно, что сильное действие вводимого при отстаивании сула перед брожением сернистого ангидрида на бактериальную флору в большой мере парализует ее и оздоравливает осадки, выпадающие после брожения [45].

### **1.3.2 Выделение азотистых веществ в процессе алкогольного брожения и при выдержке вина на дрожжах**

Исследования Н.Н. Иванова [46], проведенные в 1919 г., показали, что дрожжи не только ассимилируют азотистые вещества в процессе своей жизнедеятельности, но и выделяют их в окружающую среду. Этот вопрос был изучен рядом авторов [47] и было установлено, что наряду с потреблением азота из среды происходит и выделение его дрожжами в среду. Было показано, что скорость усвоения азота постепенно падает в процессе брожения, а скорость выделения его к концу брожения заметно увеличивается.

Исследования по изучению выделения аминокислот винными дрожжами после брожения и формирования вина были проведены Н.М. Сисакяном и Э.Н. Безингер [37]. Методом бумажной хроматографии они выделили 12 аминокислот. Из них были идентифицированы аланин, валин, глицин, серин, треонин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты. Аналогичные работы были проведены Е. Пейно и С. Лафон-Лафуркардом, а также К. Хеннигом [17].

Таким образом, было установлено, что спиртовое брожение сопровождается выделением из дрожжевых клеток во внешнюю среду азотистых соединений винной природы. Это выделение нельзя рассматривать только как процесс распада белка в результате автолиза, так как оно может происходить и при наличии синтеза.

Выделение азотистых веществ обусловлено повышением проницаемости оболочки дрожжей при брожении. Значительная часть выделенного азота является хорошим питательным материалом, на котором дрожжи растут лучше, чем на чистых аминокислотах [48].

Азотистые соединения, выделяемые дрожжами, состоят из свободных аминокислот, полипептидов, аминов, амидов и аммиачных солей. В протеинах дрожжей присутствуют 22 аминокислоты. В дрожжах обнаружены также различные пептиды, состоящие из глутаминовой кислоты, глицина, аланина, показано наличие цистеина и глутатиона, а также в большом количестве – РНК и в меньшем ДНК. Дрожжи содержат кислоторастворимые пуриновые и пиримидиновые основания.

Баланс азотистых веществ (аминный, амидный, аммиачный, пептидный и белковый азот) составляет всего 40-50 %. Аминный азот составляет 32-48 % от общего азота, аммиачный – до 3,3 %, амидный – от 3 до 7 % [49].

Исследования Ч. Пу, С. Фланзи и М. Фланзи [17] показали, что выдержка вина на дрожжевом осадке в течение одного месяца приводит к обогащению его органическим азотом на 30 % по сравнению с контрольным, через два месяца на 65 %, а через три месяца на 67 %. При этом появляются следы аммиачных солей.

Самым важным показателем является увеличение содержания аминокислот.

Количественный анализ аминокислот до и после брожения показал, что дрожжи в процессе брожения усваивают больше половины аминокислот. Если в сусле до брожения было  $575,8 \text{ мг/дм}^3$  аминокислот, то в молодом вине их осталось  $294 \text{ мг/дм}^3$  [50].

Дрожжи в процессе брожения сусла интенсивно ассимилируют аргинин, аланин, изолейцин, гистидин, фенилаланин и глутаминовую кислоту. Сравнительно хорошо усваиваются аспарагиновая кислота, изолейцин, серин, тирозин, а также пролин и триптофан. Совсем не ассимилируются глицин, лизин и метионин. В процессе брожения дрожжи выделяют их больше, чем содержатся в сусле [51].

Это говорит о том, что не все аминокислоты ассимилируются дрожжами и подвергаются превращению, часть их остается в вине. Хотя после окончания брожения дрожжи и выделяют некоторые аминокислоты, но количество их никогда не достигает первоначального количества азота, которое было в сусле до брожения.

Исследования Ч. Пу, С. Фланзи и М. Фланзи [17] показали, что выдержка на дрожжах в течение одного месяца оказывает благоприятное влияние и вино приобретает гармоничность. При более длительной выдержке качество вина больше не улучшается. Это противоречит данным А.М. Фролова-Багреева [52], который показал, что оптимальная выдержка шампанских виноматериалов на дрожжевом осадке – не менее трех месяцев. Было также установлено, что и после двухмесячной выдержки количество аминокислот увеличивается в два раза. Это важно, так как часть аминокислот возвращается обратно в вино (около 70 %).

По интенсивности метаболизма аминокислот дрожжами они были разделены на три группы. К первой группе относятся аминокислоты сусла, потребляемые во время брожения, которые не возвращаются в вино в процессе автолиза, – это аргинин, фенилаланин, гистидин. Ко второй группе относятся аминокислоты, употребляемые во время брожения, но затем возвращающиеся в

среду, – это пролин, глутаминовая и аспарагиновая кислоты, лейцин, изолейцин, валин, серин, тирозин и триптофан. К третьей группе относятся аминокислоты, которые не усваиваются дрожжами, но в процессе выдержки вина количество их увеличивается – это глицин, лизин и метионин [17].

Следует указать, что различные расы дрожжей неодинаково усваивают и выделяют аминокислоты в окружающую среду.

После окончания брожения часть азотистых веществ, особенно высокомолекулярных, выпадает в осадок, главным образом белки и комплексы на их основе, которые осаждаются танатами и спиртом. Увеличение концентрации спирта при сбраживании сусла обуславливает плохую растворимость кислого виннокислого калия, который выпадает в осадок в виде кристаллов. Эти оба процесса очень длительны.

Поскольку азотистые вещества играют важную роль в формировании, созревании и старении вина, регулирование их количества для получения различных типов вин имеет большое значение [17].

В этом направлении В.И. Ниловым и Г.Г. Валуйко [53] были проведены исследования, которые показали, что регулирование количества азотистых веществ при сбраживании сусла и формировании вина можно осуществить изменением температуры брожения и степени аэрации бродящего сусла. Эти исследования показали, что наименьшее количество азотистых веществ получается при выбраживании сусла при температуре 15-20 °С. Наоборот, брожение сусла при более низких температурах (от 5 до 12 °С), а также при температуре выше 20 °С обычно сопровождается увеличением содержания азотистых веществ в вине. Это можно объяснить тем, что при низкой температуре брожение протекает медленно, дрожжи меньше ассимилируют азотистых веществ, поэтому они переходят в вино. Наоборот, при повышении температуры (более 20 °С) дрожжи размножаются интенсивнее, происходит накопление биомассы, ускоряется процесс автолиза в конце брожения, вследствие чего происходит обогащение вина азотистыми веществами [46].

Следует указать, что скорость брожения виноградного сусла прямо пропорциональна температуре в пределах от 10 до 28 °С, которая является оптимальной. При температуре выше максимальной (28 °С) дрожжевые клетки угнетаются, брожение замедляется.

Скорость брожения зависит также от первоначальной сахаристости, рН среды и от первоначального содержания азотистых веществ.

При брожении сусла в условиях аэрации происходит более интенсивная ассимиляция азотистых веществ, накапливается биомасса дрожжей, что приводит к увеличению азота в вине вследствие автолиза дрожжей.

Полученные результаты имеют теоретическое и практическое значение, так как содержание азотистых веществ можно регулировать, изменяя условия брожения, и этим улучшать качество вина. Г.Г. Валуйко и В.И. Нилов [53] рекомендуют для получения высококачественных сухих столовых виноматериалов брожение сусла проводить при температуре 14-18 °С. Дрожжи, оставаясь в контакте с вином, после окончания брожения при спиртуозности выше 10 % и рН 3,0-3,2 угнетаются и отмирают, особенно при повышенной температуре. При этих условиях ферменты дрожжей остаются активными, вследствие чего начинается автолиз и обогащение вина азотистыми веществами, особенно аминокислотами [20].

Состав аминокислот разных типов вин изучали многие ученые в разных странах мира. Установлено, что состав и количество аминокислот зависят от способа приготовления и типа вина.

Так, например, наибольшее количество аминокислот содержится в красных винах, достигая 1377,6 мг/дм<sup>3</sup>; в белых сухих винах их 600-767 мг/дм<sup>3</sup>; приблизительно такое же количество аминокислот содержится в шампанском, а наименьшее – в игристом вине Астиспуманте, что объясняется предварительным биологическим снижением их в виноматериале.

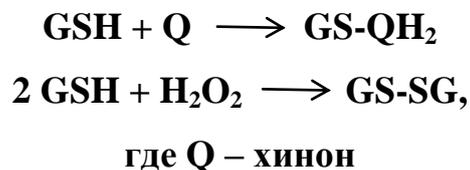
Количественное содержание отдельных аминокислот резко колеблется. Многие аминокислоты являются общими для всех вин, несмотря на разное

происхождение. Особенно много в винах пролина, затем глутаминовой кислоты, аргинина, валина, треонина, гистидина, аспарагиновой кислоты, фенилаланина и др. Реже встречаются  $\gamma$ -аминомасляная кислота, метионин, триптофан.

Помимо аминокислот, в вине встречаются пептиды и полипептиды, а также амины и амиды. Пептиды имеют важное значение в качестве промежуточных продуктов обмена и являются физиологически активными веществами. К числу таких соединений относятся цистеин и глутатион.

Они участвуют в окислительно-восстановительных процессах, оказывают влияние на активность многих ферментов, особенно на дегидрогеназы, а также на ферменты, связанные с превращением белков [46].

Активная группа глутатиона (GSH) – это тиольная группа (-SH), которая реагирует с хинонами вина, или происходит ее димеризация под действием перекиси водорода ( $H_2O_2$ ), образующейся благодаря присутствию кислорода, согласно следующим схемам:



Таким образом, наличие глутатиона способствует проявлению антиокислительных свойств.

Исследования Ч. Пу и А. Урнака (1970) показали [17], что в состав полипептидов входят главным образом глицин, лизин, треонин, валин, аланин, лейцин, серин, изолейцин, аргинин, тирозин, гистидин, фенилаланин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты. Известно, что  $\gamma$ -аминомасляная кислота не входит в полипептиды. Эти авторы считают, что аминокислоты, входящие в состав пептидов вина, составляют от 70 до 90 % от общего азота, а свободные аминокислоты вина – всего 20-30 %.

Проведенные за последние годы исследования показали, что наряду с аминокислотами, пептидами и белками в сусле и вине содержатся и другие азотистые вещества. Установлено, что часть неаминокислотного азота приходится

на амины.

В литературе появилось достаточно работ, доказывающих наличие в вине аминов. Ф. Драверт [54] в 1965 г. методом газожидкостной, тонкослойной и бумажной хроматографии идентифицировал 10 аминов, в том числе биогенных. Рек обнаружил в вине следующие биогенные амины: метил-, этил-, н-пропил-, изобутил-, н-бутил-, изопептил-, н-пентил-, н-гексил-, р-фенилэтиламин, тирамин, путресцин, кадаверин, гистамин. Предшественниками большинства аминов являются соответствующие аминокислоты. Так, кадаверин образуется из лизина, путресцин – из орнитина, агматин – из аргинина, гистамин – из гистидика, тирамин – из тиразина под действием ферментных систем микроорганизмов, в том числе винных дрожжей. При этом, многие ученые обращают внимание на тот факт, что указанные превращения протекают преимущественно при продолжительном контакте виноматериалов с дрожжами в анаэробных условиях.

Как показали исследования З.Н. Кишковского и сотр. [55], особенно много аминов в хересных винах.

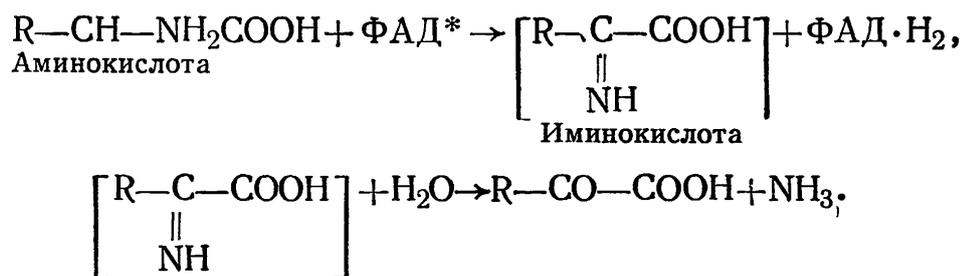
Ацетамиды образуются при аминокетиллазной реакции по схеме:



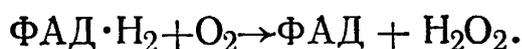
Ф. Драверт и его сотрудники, применяя газожидкостную хроматографию и масспектроскопию, идентифицировал вторичные амиды: N-этилацетамид, бутилацетамид, N-(2-метилбутил)-ацета-мид, N-(3-метилбутил)-ацетамид [54].

Одновременно с углеводами под действием ферментов дрожжей подвергаются изменению и азотистые вещества виноградного сока.

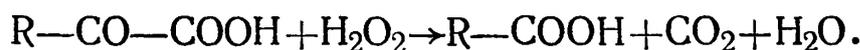
Дезаминирование аминокислот с образованием соответствующих α-кетокислот было впервые установлено Нейбауером. Реакцию окисления l-d-изомеров аминокислот оксидазами аминокислот (флавопротеинами) можно выразить следующей схемой:



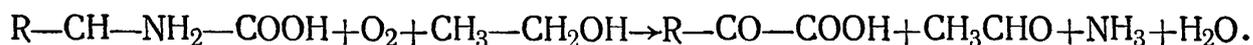
При действии этих оксидаз от молекулы аминокислоты (ФАД – Флавинадениндинуклеотид) отнимаются два атома водорода и при взаимодействии с молекулярным кислородом образуется перекись водорода, как это показано ниже:



Образовавшаяся перекись водорода катализирует окисление  $\alpha$ -кетокислоты с образованием соответствующей карбоновой кислоты и  $\text{CO}_2$  по схеме:

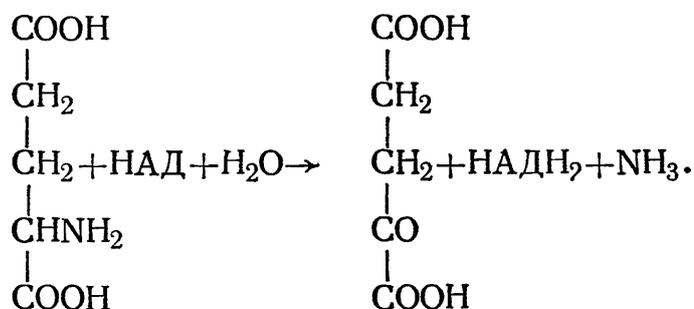


При наличии в этой системе каталазы возникающая при окислении аминокислот перекись водорода также способна окислять этанол.



Эта реакция является типичным примером пероксидазных реакций, катализируемых каталазой.

Дегидрогеназа глутаминовой кислоты дегидрирует 1-глутаминовую кислоту по схеме:

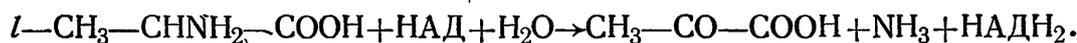


Предполагают, что в качестве промежуточного продукта образуется иминокислота, как это имеет место при окислении аминокислот оксидазами

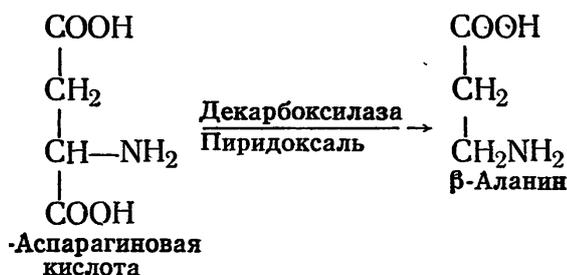
(флавопротеинами).

Глутаматдегидрогеназа специфична в отношении L-глутаминовой кислоты, глутамина, аспарагиновой кислоты и  $\gamma$ -метилглутаминовой кислоты.

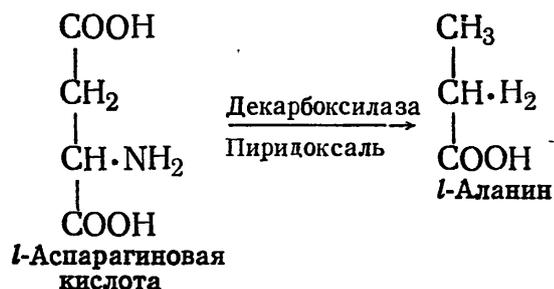
Дрожжи содержат также аланиндегидрогеназу, которая дегидрирует аланин в присутствии НАД по схеме:



Известно, что при декарбоксилировании аминокислот образуются амины, но этот процесс может протекать так, что могут возникнуть и новые аминокислоты. Так, например, при декарбоксилировании  $\alpha$ -карбоксильной группы образуется  $\beta$ -аланин:



При декарбоксилировании L-аспарагиновой кислоты в  $\beta$ -карбоксильной группе образуется L-аланин:



Дрожжи также способны дегидрировать аспарагиновую кислоту в щавелевоуксусную, которая гидрируется в яблочную кислоту, а последняя дегидратируется в фумаровую и таким образом по циклу дикарбоксильных кислот приводит к образованию янтарной и уксусной кислот.

При декарбоксилировании некоторых аминокислот образуются амины, а при дезаминировании и декарбоксилировании возникают спирты.

Из ароматических и гетероциклических аминокислот образуются следующие соединения: из фенилаланина –  $\beta$ -фенилэтанол,  $\beta$ -фенилэтиламин, фенилпировиноградная кислота; из тирозина – *p*-оксифенилэтанол (тиразол) и 3,4-диоксифенилэтиламин; из гистидина –  $\beta$ -имидазол, гистамин; из триптофана – триптофол,  $\beta$ -индол, пировиноградная кислота и триптамин [56].

Возможен и другой путь превращения аминокислоты: дезаминирование без последующего декарбоксилирования. В этом случае из лейцина образуется  $\alpha$ -кетокaproновая кислота, из валина –  $\alpha$ -кетоизовалериановая, а из аланина – пировиноградная кислота. Кетокислоты декарбоксилируются в альдегиды.

Таким образом, в результате действия ферментативных систем дрожжей из аминокислот возникает ряд веществ: высшие спирты, органические кислоты, альдегиды, амины и другие соединения.

Исследования превращений аминокислот винными дрожжами, проведенные Н.М. Сисакяном, И.А. Егоровым и Н.Г. Саришвили (1963), показали, что из глицина винные дрожжи способны синтезировать около двенадцати аминокислот, т.е. добавление одной аминокислоты приводит к своеобразным процессам обмена веществ у винных дрожжей, в результате чего в среде накапливается определенный набор аминокислот, гораздо более богатый по составу, чем состав аминокислот в контрольном образце (без добавления аминокислоты). Также установлено, что винные дрожжи из фенилаланина и тирозина образуют  $\beta$ - и *p*-фенилэтиловый спирт, играющий важную роль в образовании букета вина [57].

Биосинтез аминокислот происходит вначале по глиоксальному циклу. Из глицина образуется глиоксальевая кислота, которая конденсируется с ацетил-КоА и образует яблочную кислоту. Последняя дегидрируется в щавелевоуксусную, которая конденсируется с ацетил-КоА по циклу трикарбоксильных кислот. Это позволяет объяснить образование аланина, серина, фенилаланина, аспарагиновой, глутаминовой и других аминокислот.

Дикарбоксильные кислоты (пировиноградная, щавелевоуксусная и  $\alpha$ -кетоглутаровая) в свою очередь могут вступить в реакцию переаминирования с

другими аминокислотами и образовать новые аминокислоты.

Таким образом, путем переаминирования происходит образование аланина, аспарагиновой и глутаминовой кислот из соответствующих кетокислот.

Дрожжи для роста и размножения не нуждаются в полном наборе аминокислот. Они способны синтезировать из неполноценных аминокислот полноценные. Так, из глицина в начале синтезируется аланин, а из него образуется валин.

С. Ямада наблюдал синтез дрожжами изолейцина, лейцина из  $\alpha$ -амино-*n*-масляной кислоты или из треонина. Дрожжи способны синтезировать целый ряд незаменимых аминокислот из неполноценных аминокислот [58].

Глицин, цистеин и глутаминовая кислота участвуют в образовании глутатиона. Этот трипептид играет большую роль в окислительно-восстановительных процессах при созревании и старении вина, является сильным восстановителем и очень легко подвергается окислению. Он может существовать в восстановленной и окисленной форме, в виде дисульфида, широко распространен в природе, впервые выделен из дрожжей Ф. Гопкинсом в 1921 г. [59].

В дисульфиде глутатиона окисляется сульфгидрильная группа SH, при этом выделившийся водород восстанавливает окисленные ароматобразующие вещества, вкус и букет вина улучшаются. Аналогичную роль играет и цистеин.

Таким образом, в процессе брожения виноградного сусла, а также при выдержке молодого вина на дрожжевой гуще происходят превращения аминокислот и накапливаются различные вещества. Возникающие при этом ароматобразующие соединения оказывают определенное влияние на вкус и букет вина.

### 1.3.3 Влияние компонентов древесины дуба на изменение ароматообразующих компонентов вина

После брожения вино хорошо вызревает в небольших дубовых бочках. Ведь дерево – пористый материал, и таким образом происходит небольшой, но постоянный кислородный обмен. Это способствует тонкому окислению вина: оно вызревает быстрее, чем в бескислородной среде, и развивает большую полноту ароматов [60].

Благодаря выдержке вина на дрожжевом осадке в нем появляются особые вкусовые нюансы. Их можно даже увеличить, если осадок регулярно взмучивать. При помощи осадка можно удалить терпкие фенольные вещества дуба и содействовать ассимиляции ароматических веществ. Полисахариды осадка связываются со свободными эллаготанинами, снижая терпкость дубильных веществ.

Кроме того, компоненты осадка могут связываться с производными соединениями дуба, такими как ванилин, фурфурол и метил-окталактоны, видоизменяя присутствующие в вине дубовые тона [7].

Проведенные исследования, связанные с изучением влияния компонентов древесины дуба на физико-химический состав и органолептические свойства белых столовых вин показали, что вина, выдержанные в течение 6 месяцев с предварительно внесенным экстрактом дуба в количестве 100 мг/дм<sup>3</sup>, отличались от контрольных лучшей окраской и прозрачностью, большей полнотой и слаженностью во вкусе, более ярким букетом. В образце вина, выдержанного с экстрактом дуба, увеличилось содержание высших спиртов – н-пропилового и н-амилового, обладающих цветочным и фруктовым ароматом, и снизилось содержание н-бутилового и изоамилового спиртов, обладающих «сивушным» оттенком. Также увеличилось содержание фенилэтилового спирта, обладающего запахом розы, а также этилацетата и этиллактата, с увеличением содержания которых связывают степень зрелости вина [61].

Наряду с увеличением общего содержания ароматообразующих веществ в вине, обогащенном экстрактом дуба, увеличивается содержание молочной, янтарной и лимонной кислот при одновременном снижении концентрации винной кислоты.

Использование экстрактивных веществ древесины дуба для приготовления белых выдержанных вин положительно влияет на их органолептические и физико-химические показатели. В результате готовая продукция приобретает тона выдержки и качество, близкие винам, получаемым с участием дубовой бочки [61].

#### 1.4 Выводы по главе

Представленный анализ современного состояния свидетельствует о том, что проводимый в настоящее время батонаж не является управляемым или регулируемым процессом. Но обоснованы его параметры и режимы, имеются существенные расхождения во мнении ученых о продолжительности и температуре выдержки виноматериалов на дрожжевом осадке. Отсутствуют объективные критерии, свидетельствующие о завершении процесса и необходимости отделения виноматериала от дрожжевого осадка.

В связи с этим нами проведен комплекс исследований с целью обоснования параметров и режимов батонажа с учетом изменения концентраций не только аминного азота и аминокислот, но других компонентов дрожжевой клетки, участвующих в процессах массообмена между дрожжевой клеткой и средой – виноматериалом.

**Цель работы** – совершенствование технологии белых столовых вин путем регулирования автолиза винных дрожжей и использования их биологического потенциала.

В соответствии с поставленной целью решались следующие задачи:

– провести аналитический обзор отечественной и зарубежной научно-технической и патентно-информационной литературы по теме исследования;

- исследовать массообменные процессы между дрожжевой клеткой и виноматериалом при батонаже;
- обосновать параметры и режимы батонажа;
- установить динамику выделения и изменения активности ферментов – протеиназ и пектиназ – при проведении батонажа;
- исследовать изменение физиологического состояния клеток винных дрожжей при батонаже;
- совершенствовать технологию производства белых столовых вин путем регулирования батонажа;
- разработать техническую документацию на усовершенствованную технологию производства белых столовых вин;
- осуществить апробацию предлагаемой технологии в промышленном производстве белых столовых вин;
- провести расчет экономической эффективности производства технологии белых столовых вин с проведением батонажа.

## 2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 2.1 Объекты исследований

Объектом исследований было виноградное сусло из винограда сортов Совиньон блан и Шардоне, которое сбраживали с применением различных рас активных сухих дрожжей (далее АСД) вида *Saccharomyces cerevisiae* – ИОС 1002, ИОС 18-2007, Lalvin EC 1118, Lalvin Rhone 2056, Zymaflore X5 (Франция), Uvaferm GHM, Oenoferm (Германия), Lalvin QA 23 (Канада), Proelif (Португалия) и вида *Saccharomyces cerevisiae bayanus* – Lalvin RA17 (Франция).

В отдельных экспериментах применяли разводки чистых культур отечественных штаммов из музея ФГБУН Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» РАН (Республика Крым) – Ркацители 6, Пино 14, Кахури 7, Шампанская 7-10С, Раса 7, Судак VI-5.

### 2.2 Методы исследований

Основные компоненты химического состава виноградного сусла и виноматериалов определяли по методикам действующих ГОСТ и ГОСТ Р:

- ГОСТ 13192-73 – массовая концентрация сахаров [62];
- ГОСТ 32000-2012 – массовая концентрация приведенного экстракта [63];
- ГОСТ 32001-2012 – массовая концентрация летучих кислот [64];
- ГОСТ 32095-2013 – объемная доля этилового спирта [65];
- ГОСТ 32114-2013 – массовая концентрация титруемых кислот [66];
- ГОСТ 32115-2013 / (ГОСТ Р 51655-2000) – массовая концентрация свободного и общего диоксида серы [67].

Содержание сухих веществ определяли рефрактометрическим методом по методикам ГОСТ ISO 2173-2013 [68].

Массовую концентрацию органических кислот, катионов металлов и аминокислот устанавливали с помощью капиллярного электрофореза с применением прибора «Капель 103 Р» и «Капель 105М» по ГОСТ Р 52841-2007 [69] и методикам, разработанным в научном центре виноделия и проблемно-исследовательской лаборатории ФГБНУ СКФНЦСВВ [70, 71, 72]. Массовую концентрацию фенольных соединений определяли колориметрически с применением реактива Фолина-Чокальтеу, полисахаридов – фенолсерным методом Дише, интенсивность окраски – спектрофотометрическим способом, содержание суммы коллоидов и белка – по методу Шахтерле и Поллак [73], величину рН – потенциометрически на рН-метре рН-151. Молекулярные массы белков исследовали с помощью электрофореза в полиакриламидном геле и ПЦР анализа. Массовую концентрацию аминного азота в винноматериале определяли по методике Серенсена (формольное титрование) [73]. Массовую концентрацию липидов определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на приборе «Agilent Technologies». Для выделения комплекса биополимеров – белково-фенольных, белково-полисахаридных, белково-полифенольно-полисахаридных комплексов – применяли модифицированную нами методику с помощью карбоксильного катионита марки КМ и КМ-2П (г. Санкт-Петербург) [73]. Активность протеиназ и пектиназ определяли по методике С.П. Авакянца [74], используя в качестве субстратов альбумин и яблочный пектин соответственно. Органолептическая оценка винноматериалов проводилась в ходе дегустаций по 100-бальной системе в соответствии с ГОСТ 32051-2013 [75]. Физиологическое состояние винных дрожжей контролировали путем микроскопирования и подсчета количества клеток с использованием камеры Горяева [76]. Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием компьютерных программ Microsoft Excel 2010 и Statistika V.10.1. Все испытания проводили с двукратной повторностью, доверительный интервал составил 0,95 %.

Структурная схема исследований приведена на рисунке 1.

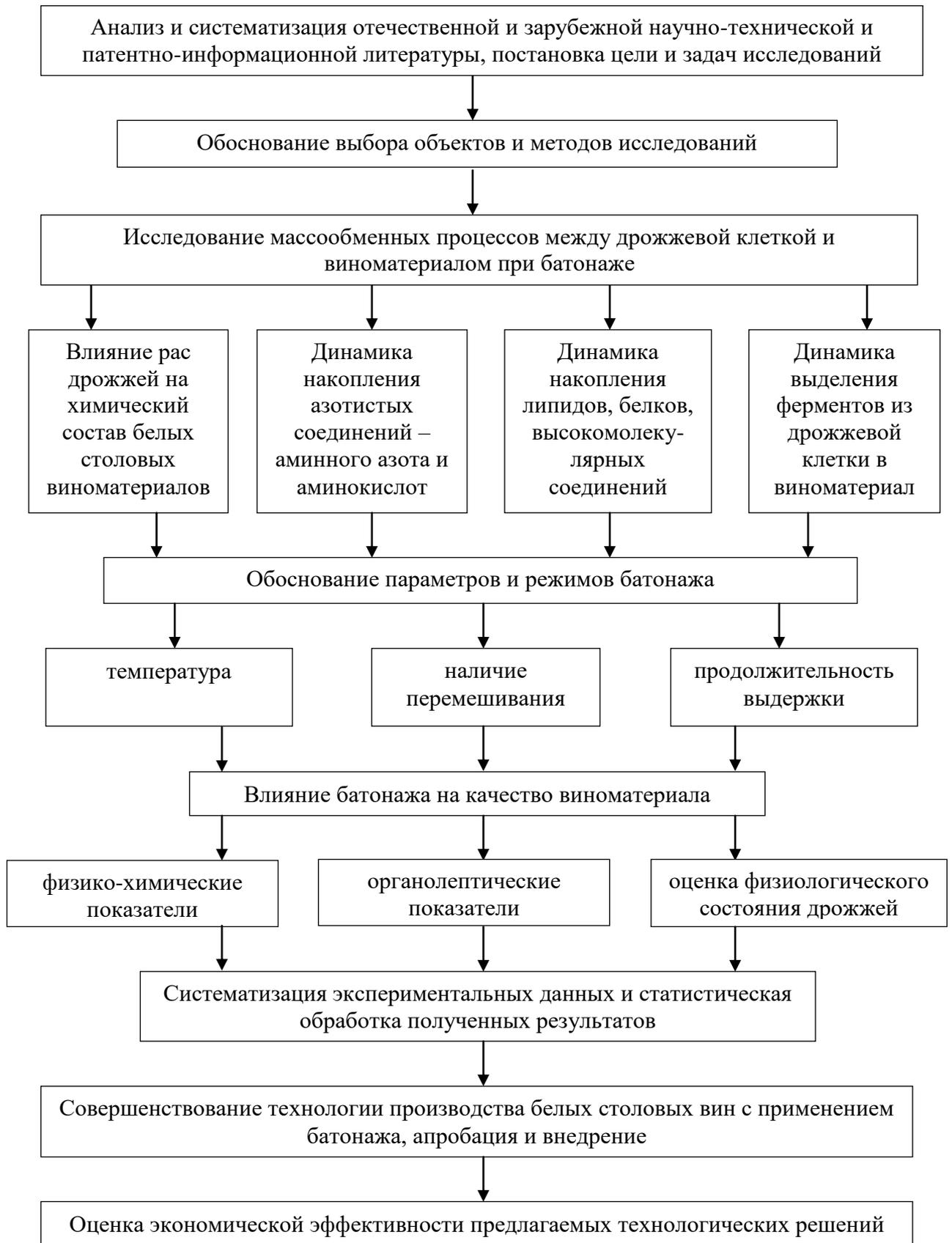


Рисунок 1 – Структурная схема исследований

### **3 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ**

В соответствии с поставленной целью работы для совершенствования технологии белых столовых вин была предпринята попытка изучить массообменные процессы между дрожжевой клеткой и средой – белым столовым виноматериалом, протекающие при их продолжительном контакте. При этом одной из важнейших задач было изучение динамики азотистых веществ, экзо- и эндоферментов с целью обоснования параметров и режимов батонажа.

#### **3.1 Исследование массообменных процессов между дрожжевой клеткой и виноматериалом при батонаже**

##### **3.1.1 Влияние новых рас активных сухих дрожжей на химический состав белых столовых виноматериалов**

В последние годы селекционированы многие новые расы АСД, влияние которых на химический состав виноматериалов в условиях России не проводилось.

В виноградное сусло из винограда сорта Совиньон блан в одинаковых количествах (2 г/дм<sup>3</sup>) вносили реактивированные клетки рас дрожжей Oenoferm, Proelif, Zymaflore X5, кроме контрольного образца, в котором брожение проводили спонтанной микрофлорой виноградной ягоды. Температура брожения 21-22 °С, исходная концентрация сахаров в исходном сусле составила 18,3 %. Брожение проводили в герметичных условиях.

При анализе полученных данных [3] наблюдаются различия в физико-химических показателях виноматериалов в зависимости от расы дрожжей (таблица 1).

Таблица 1 – Физико-химические показатели виноматериалов в зависимости от расы дрожжей

Показатель	Контроль	Раса дрожжей		
		Oenoferm	Proelif	Zymaflore X5
Доля этилового спирта, % об.	9,77	9,78	9,51	9,85
pH	2,78	2,91	2,88	2,87
Общий SO <sub>2</sub> , мг/дм <sup>3</sup>	13,7	28,4	23,1	14,9
Сумма полифенолов, мг/дм <sup>3</sup>	272	309	285	301
Массовая концентрация восстановленных сахаров, г/дм <sup>3</sup>	1,2	1,9	1,6	1,7
Массовая концентрация экстракта, г/дм <sup>3</sup>	18,4	20,9	19,0	20,1
Летучие кислоты, г/дм <sup>3</sup>	0,36	0,43	0,31	0,33
Аминный азот, мг/дм <sup>3</sup>	224	234	196	212

Полученные результаты показали, что объемная доля этилового спирта изменялась от 9,51 до 9,85 % об. у расы Zymaflore X5.

Активная кислотность (pH) исследуемых образцов изменялась в пределах от 2,78 (контроль) до 2,91 (образец с применением расы Oenoferm). Установлено, что в сравнении с контролем применение исследуемых рас дрожжей способствовало изменению концентрации общего диоксида серы, значение которого варьировало от 14,9 до 28,4 мг/дм<sup>3</sup> (расы Zymaflore X5 и Oenoferm соответственно).

В образце, приготовленном с применением расы Oenoferm, наблюдалось большее количество суммы полифенолов, массовой концентрации восстановленных сахаров и приведенного экстракта. Это, очевидно, объясняется меньшей сорбцией экстрактивных компонентов поверхностью клеток при брожении сусла.

Летучие кислоты являются показателем качества вина, обусловленным содержанием в нем алифатических одноосновных кислот с числом углеродных атомов от 1 до 9. Основным представителем летучих кислот вина является уксусная, составляющая 90 % от их общего содержания. Она образуется как вторичный продукт спиртового брожения сусла. Содержание летучих кислот

лимитируется (1,10 г/дм<sup>3</sup> для белых вин) [73], так как они придают винам неприятный вкус и запах, и в высоких концентрациях свидетельствуют о микробиальных заболеваниях. В исследуемых образцах концентрация летучих кислот имела невысокие значения. Наименьшее ее содержание обнаружено в образце с применением расы Proelif, а наибольшее – у расы Oenoferm (0,33 и 0,43 г/дм<sup>3</sup> соответственно), что значительно ниже допустимого уровня.

К числу важных показателей биохимической активности клеток при брожении относится массовая концентрация аминного азота, по динамике которой можно даже судить о стадии развития и состояния клетки. В экспериментальных вариантах количество аминного азота варьировало от 196 мг/дм<sup>3</sup> (раса Proelif) до 234 мг/дм<sup>3</sup> (раса Oenoferm). Это свидетельствует о том, что при использовании рас дрожжей Proelif и Oenoferm происходит наиболее существенное вовлечение азотистых соединений в процессы метаболизма клеток и ферментативные реакции.

Органические кислоты оказывают влияние на вкус и букет вина, определяют направленность биохимических процессов (таблица 2).

Таблица 2 – Массовая концентрация органических кислот в зависимости от расы дрожжей, г/дм<sup>3</sup>

Кислота	Контроль	Раса дрожжей		
		Oenoferm	Proelif	Zymaflore X5
Винная	4,2	4,3	4,5	4,9
Яблочная	2,0	1,6	1,7	1,9
Янтарная	0,66	0,79	0,76	0,64
Лимонная	0,28	0,27	0,28	0,28
Уксусная	0,18	0,09	0,05	0,09
Молочная	2,35	2,21	2,18	2,29

В результате проведенных исследований установлено, что содержание винной кислоты варьировало незначительно, при этом ее наибольшее содержание отмечено при использовании рас Zymaflore X5 и Proelif. В сравнении с контролем

выявлено снижение концентрации яблочной кислоты. В виноматериалах ее количество изменялось от 1,6 г/дм<sup>3</sup> при использовании расы Oenoferm, 1,7 г/дм<sup>3</sup> – у расы Proelif до 1,9 г/дм<sup>3</sup> при использовании расы Zymaflore X5. Такое различие может объясняться биосинтетическими функциями винных дрожжей. Ведь органические кислоты могут образовываться при брожении из соответствующих аминокислот: янтарная – из глютаминовой, молочная – из аланина, яблочная – из аспарагиновой и т. д. Поэтому при анализе тенденций изменения концентрации органических кислот необходимо учитывать и этот факт.

Полученные результаты позволяют считать, что все экспериментальные расы дрожжей обладают кислотопонижающей способностью, что особенно актуально и значимо в настоящее время.

Отмечено накопление янтарной кислоты в экспериментальных образцах в сравнении с контролем, особенно в вариантах, полученных с использованием рас дрожжей Proelif и Oenoferm (0,76 и 0,79 г/дм<sup>3</sup> соответственно). Известно [77], что янтарная кислота способствует увеличению антиоксидантной способности белых столовых вин и их устойчивости к окислению. Следовательно, образцы, полученные с применением рас Proelif и Oenoferm, более устойчивы к окислению в сравнении с применением расы Zymaflore X5.

Лимонная кислота является естественным побочным продуктом спиртового брожения [78] и участвует в сложении вкуса вина, окислительно-восстановительных процессах. В цикле Кребса она образуется из пировиноградной кислоты под действием ацетил-КоА или из щавелево-уксусной кислоты под действием декарбоксилирующих ферментов цикла Кребса. В исследуемых образцах содержание лимонной кислоты составило 0,28 г/дм<sup>3</sup>, за исключением образца с применением расы Oenoferm, в котором содержание лимонной кислоты – 0,27 г/дм<sup>3</sup>.

Наблюдалось уменьшение содержания молочной кислоты во всех образцах, особенно при использовании расы Proelif и Oenoferm (2,18 и 2,21 г/дм<sup>3</sup> соответственно). В контрольном образце содержание молочной кислоты

составило 2,35 г/дм<sup>3</sup>.

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать вывод о существенном влиянии расы дрожжей на химический состав белых столовых виноматериалов.

### 3.1.2 Динамика накопления аминного азота

Виноградное осветленное сусло из сорта винограда Совиньон блан сульфитировали до общего содержания диоксида серы 70 мг/дм<sup>3</sup> и сбраживали с применением АСД вида *Saccharomyces cerevisiae* Killer (Bayanus) расы ЮС 18-2007 (Франция). По окончании брожения виноматериал перемешивали с биомассой дрожжей и делили на четыре образца: 1 – перемешивали один раз каждую неделю; 2 – перемешивали один раз в месяц; 3 – перемешивали один раз в два месяца; 4 – не перемешивали (контроль). В проведенных нами экспериментах продолжительность батонажа составляла шесть месяцев. Анализ полученных экспериментальных данных (таблица 3) свидетельствует о том, что в контрольном образце 4 в первые 2,5 месяца наблюдения концентрация аминного азота была меньше, чем в исходном виноматериале.

На наш взгляд, это можно объяснить различным физиологическим состоянием клеток в биомассе дрожжей. После брожения в вине идентифицировались дрожжевые клетки: мертвые (около 5-7 %), угнетенные (стационарная фаза развития) и физиологические активные (до 30 %). Жизнеспособные дрожжевые клетки и даже дрожжи, находившиеся в стационарной фазе развития, продолжали потреблять азотистые вещества в легкоусваиваемой форме, т.е. аминный азот. Количество же мертвых или лизирующихся клеток было недостаточно велико, чтобы заметно повлиять на увеличение концентрации аминного азота. Начиная с третьего месяца и до конца наблюдений в контроле отмечено увеличение концентрации аминного азота, связанное с протеканием процесса автолиза.

Таблица 3 – Динамика аминного азота в процессе выдержки виноматериала в контакте с биомассой дрожжей

Продолжительность батонажа, месяцев	Содержание аминного азота в образце, мг/дм <sup>3</sup>			
	1	2	3	4 (контроль)
0 (исходный виноматериал)	212	212	212	212
0,5	226	220	224	202
1,0	244	236	192	188
1,5	278	248	188	196
2,0	306	266	216	194
2,5	334	286	232	206
3,0	366	302	248	226
3,5	398	342	260	242
4,0	428	356	306	268
4,5	436	368	324	284
5,0	456	378	342	290
5,5	422	382	356	316
6,0	388	396	388	328

Результаты показали, что динамика накопления аминного азота в образцах, подвергнутых батонажу, отличалась от показателей контрольного образца (рисунок 2).

Перемешивание виноматериала с биомассой дрожжей приводило к заметному увеличению концентрации аминного азота в виноматериале. При этом более частое перемешивание (образец 1) привело к тому, что через пять месяцев наблюдений количество аминного азота в виноматериале достигло наибольшего значения, после чего отмечено его снижение.

В образцах 2 и 3 с меньшей интенсивностью батонажа концентрация аминного азота в виноматериале возрастала постепенно. После непосредственного перемешивания выявлен его заметный прирост. Это свидетельствует о протекании автолитических процессов в биомассе дрожжей, а перемешивание способствует распределению выделившегося дрожжами аминного азота по всему объему виноматериала.

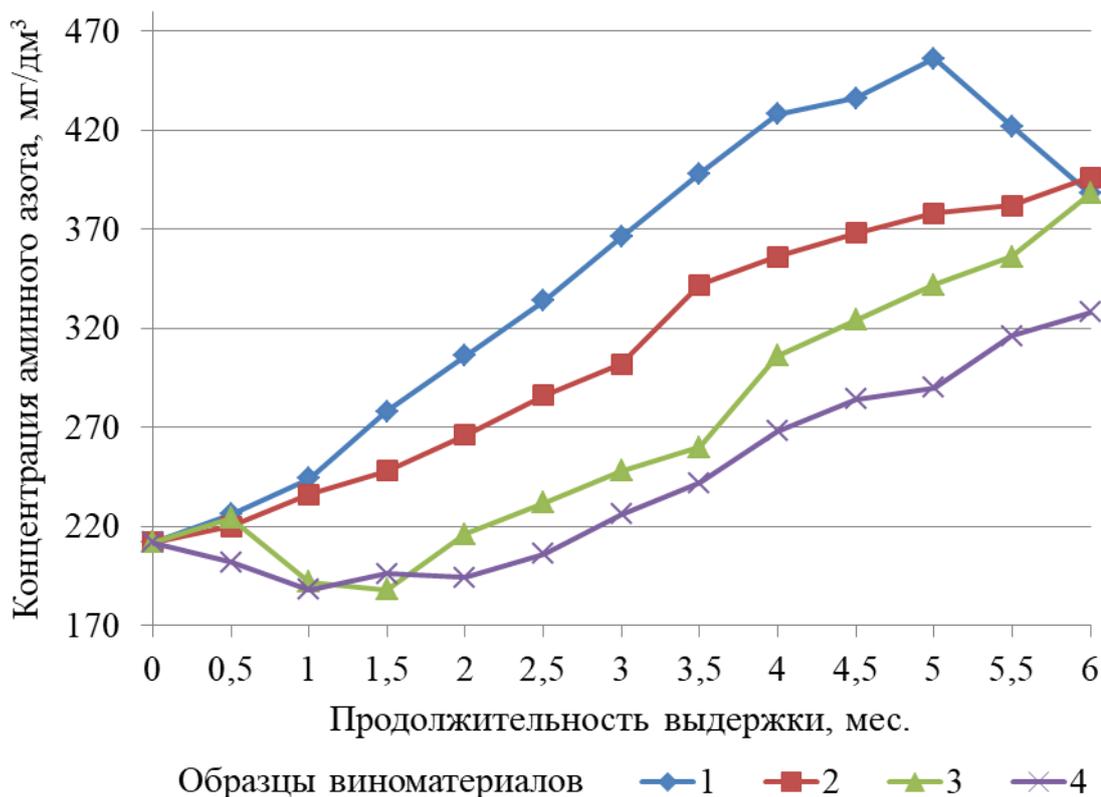


Рисунок 2 – Динамика изменения концентрации аминного азота в исследованных образцах виноматериалов, где: 1 – перемешивание один раз в неделю; 2 – перемешивание один раз в месяц; 3 – перемешивание один раз в два месяца; 4 – без перемешивания (контроль)

Проведена статистическая обработка экспериментальных данных с целью установления оптимальных параметров проведения батожа, в частности тенденции изменения концентрации аминного азота в зависимости от продолжительности контакта дрожжей с виноматериалом. В основу расчетов были положены экспериментальные материалы данного раздела. Составлена матрица, выходным параметром которой была массовая концентрация аминного азота.

При установлении взаимосвязи между накоплением аминного азота и такими переменными, как продолжительность контакта с биомассой дрожжей и кратность перемешивания дрожжевого осадка, выявлено, что изменение содержания зависимой переменной (аминный азот) прямо пропорционально

продолжительности контакта и обратно пропорционально кратности перемешивания (рисунки 3 и 4).

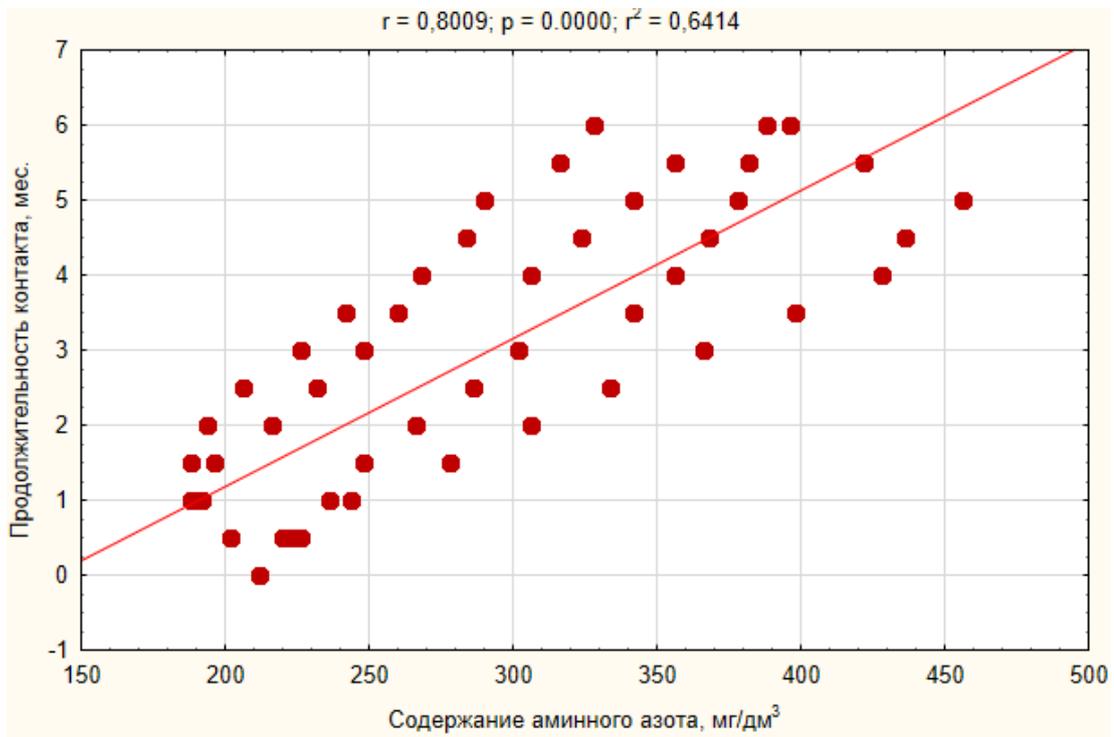


Рисунок 3 – Влияние продолжительности контакта между биомассой дрожжей и виноматериалом на содержание аминного азота

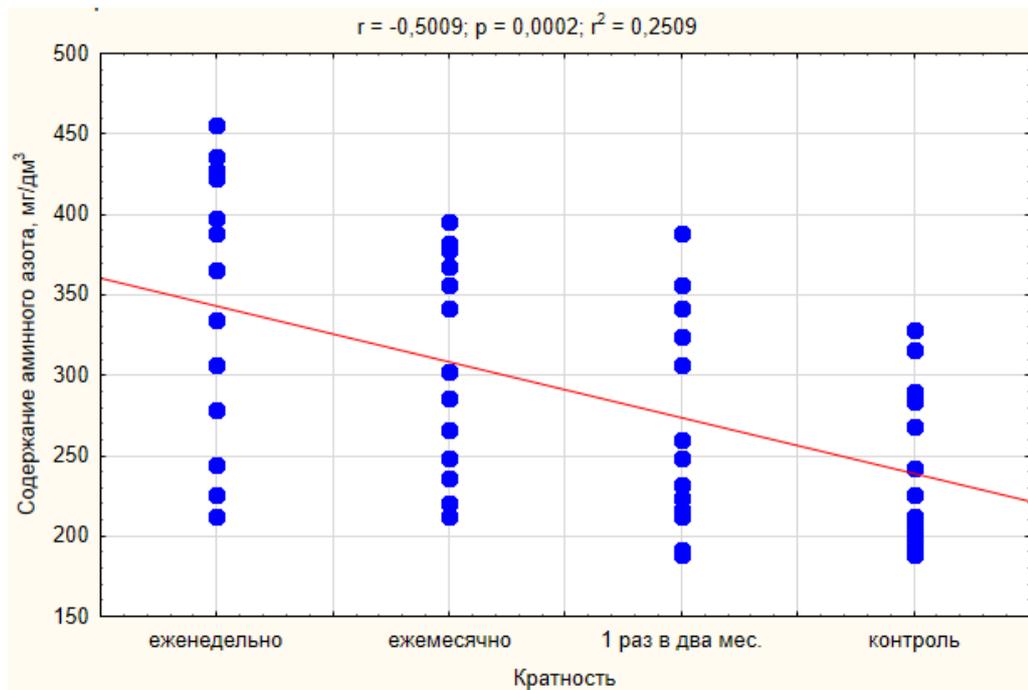


Рисунок 4 – Влияние кратности перемешивания дрожжевого осадка на накопление аминного азота

При увеличении времени контакта с биомассой дрожжей накопление аминного азота будет выше, коэффициент корреляции равен 0,8 (рисунок 3), что является статистически значимым, так как  $p < 0,05$  (в данном случае  $p = 0,0000$ ). Формула данной зависимости, которая теоретически может служить неким прогнозом формирования уровня аминного азота в зависимости от продолжительности контакта с биомассой дрожжей, выглядит следующим образом:

$$Y = -2,7818 + 0,0198 \cdot X, \quad (1)$$

где  $Y$  – содержание аминного азота, мг/дм<sup>3</sup>;

$X$  – продолжительность контакта с биомассой дрожжей, мес.

В данном случае линейная модель описывает изучаемый процесс с коэффициентом детерминации  $r^2 = 0,6$ .

Исходя из полученных данных рисунка 4, наблюдается обратная взаимосвязь с коэффициентом корреляции  $r = -0,5$  и уровнем значимости  $p = 0,0002$ , что является приемлемым. Однако необходимо отметить, что чем чаще происходит перемешивание, тем выше содержание аминного азота. Формула этой зависимости выглядит следующим образом:

$$Y = 4107,641 - 34,5385 \cdot X, \quad (2)$$

где  $Y$  – содержание аминного азота, мг/дм<sup>3</sup>;

$X$  – кратность перемешивания дрожжевого осадка, мес.

Количественная оценка адекватности уравнения моделируемому процессу мала ( $r^2 = 0,25$ ), следовательно рассматривать ее в качестве инструмента прогнозирования некорректно.

На рисунке 5 представлена более полная визуализация связи между переменными (продолжительность контакта с биомассой дрожжей и кратность перемешивания дрожжевого осадка).

Рисунок 6 является трехмерной визуализацией взаимосвязи рассматриваемых переменных, а также пространственным отражением рисунка 5.

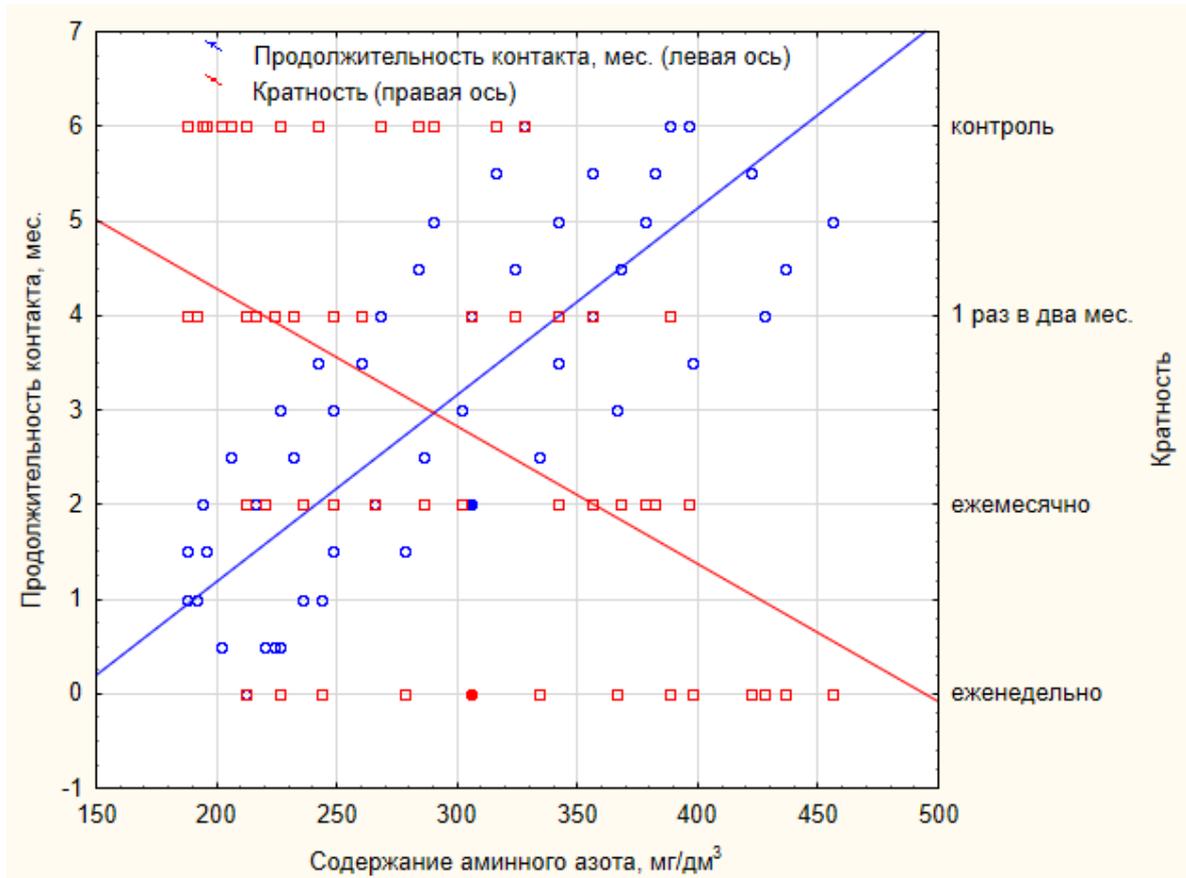


Рисунок 5 – Визуализация взаимосвязи переменных на одной плоскости

На данном графике четко прослеживаются условия максимального накопления (красная зона – при длительном контакте и частом перемешивании) и минимального накопления (зеленая зона – при менее длительном контакте и без перемешивания) аминного азота.

Таким образом, при проведении батонажа протекают сложные массообменные процессы между биомассой дрожжей и виноматериалом, среди которых секреция аминного азота из дрожжевой клетки в среду, биохимические превращения аминокислот, окислительные процессы, приводящие к изменению окраски. На основании проведенных исследований [79, 80] установлено, что батонаж целесообразно проводить один раз в месяц.

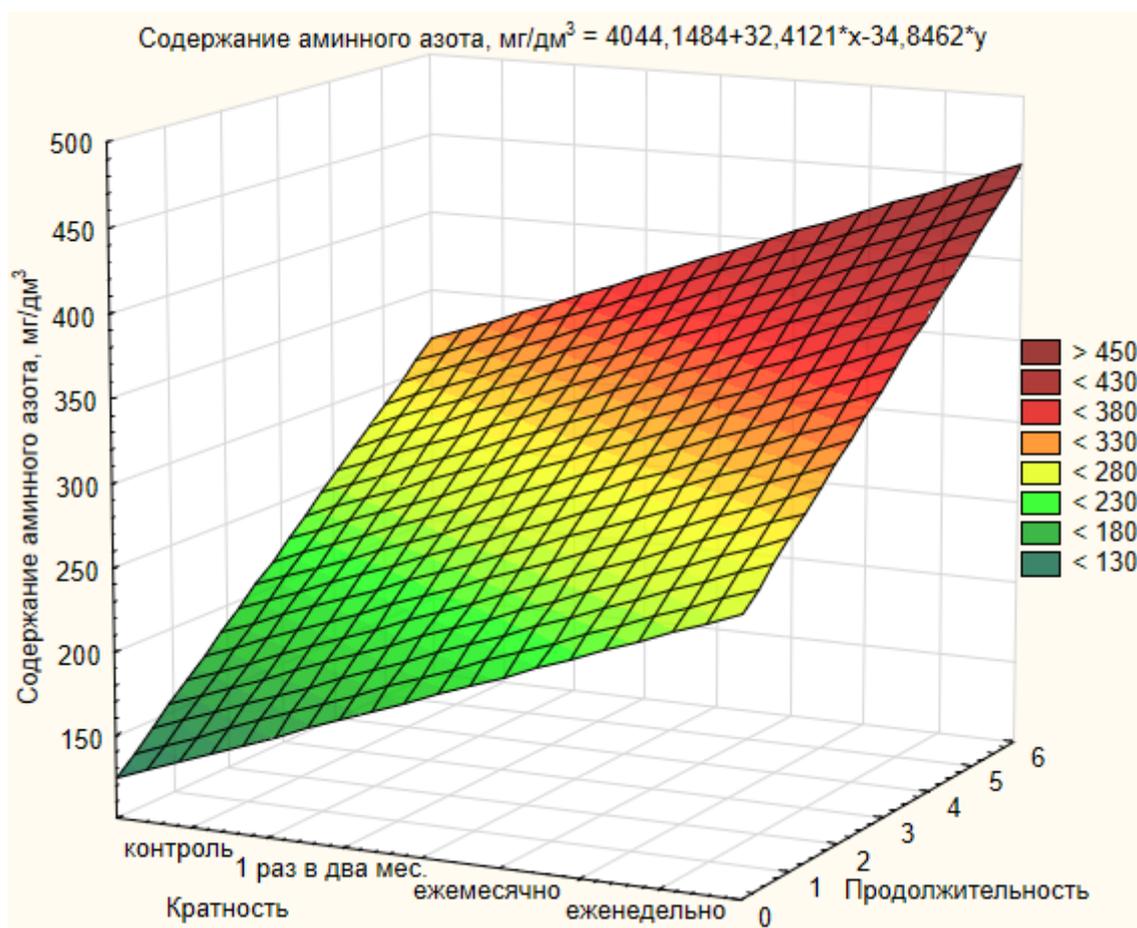


Рисунок 6 – Трехмерная визуализация взаимосвязи переменных, где X – продолжительность контакта с биомассой дрожжей, Y – кратность перемешивания дрожжевого осадка

Дальнейшие исследования были проведены с применением белого столового виноматериала из сорта винограда Совиньон, который был получен в результате сбраживания суслу с применением АСД вида *Saccharomyces cerevisiae* Killer (Bayanus) расы ИОЦ 18-2007 (Франция). По окончании брожения виноматериал перемешивали с биомассой дрожжей, делили на четыре образца, которые выдерживали при различной температуре в течение четырех месяцев: 1 – 4-6 °С; 2 – 10-12 °С; 3 – 16-18 °С (контроль); 4 – 22-25 °С. На основании ранее проведенных исследований батонаж проводили один раз в месяц путем перемешивания в течение 30-40 минут.

Анализ полученных данных [81] свидетельствуют о том, что

направленность и активность автолитических процессов, а также состав продуктов автолиза дрожжей зависят от температуры. Анализ экспериментальных материалов (таблица 4, рисунок 7) показал, что выдержка виноматериала в контакте с биомассой дрожжей при температуре 4-6 °С приводила к незначительному изменению концентрации аминного азота в течение всего периода наблюдения. При этом наряду с биохимическими сдвигами катаболического характера, в начале процесса автолиза происходят анаболические изменения: синтезируются новые белки, ферменты, повышается прочность клеточной стенки. Наличие разнообразных питательных веществ в вине, в том числе легкоусваиваемых азотистых соединений, способствует длительному сохранению жизнеспособности винных дрожжей. Лишь на четвертом месяце контакта с дрожжами после батонажа отмечено небольшое увеличение концентрации аминного азота в виноматериале вследствие усиления лизиса клеток [80].

При температуре выдержки 10-12 °С наблюдается незначительное увеличение количества аминного азота в виноматериале преимущественно после проведения батонажа.

Таблица 4 – Изменение концентрации аминного азота в процессе батонажа, мг/дм<sup>3</sup>, при различной температуре

Продолжительность, выдержки, месяцев	Температура, °С			
	4-6	10-12	16-18 (контроль)	22-25
0 (исходный виноматериал)	194	194	194	194
0,5	182	198	212	214
1,0 (батонаж)	188	214	229	236
1,5	172	218	253	248
2,0 (батонаж)	180	234	285	303
2,5	188	228	311	332
3,0 (батонаж)	196	244	348	375
3,5	188	232	372	392
4,0 (батонаж)	212	276	408	452

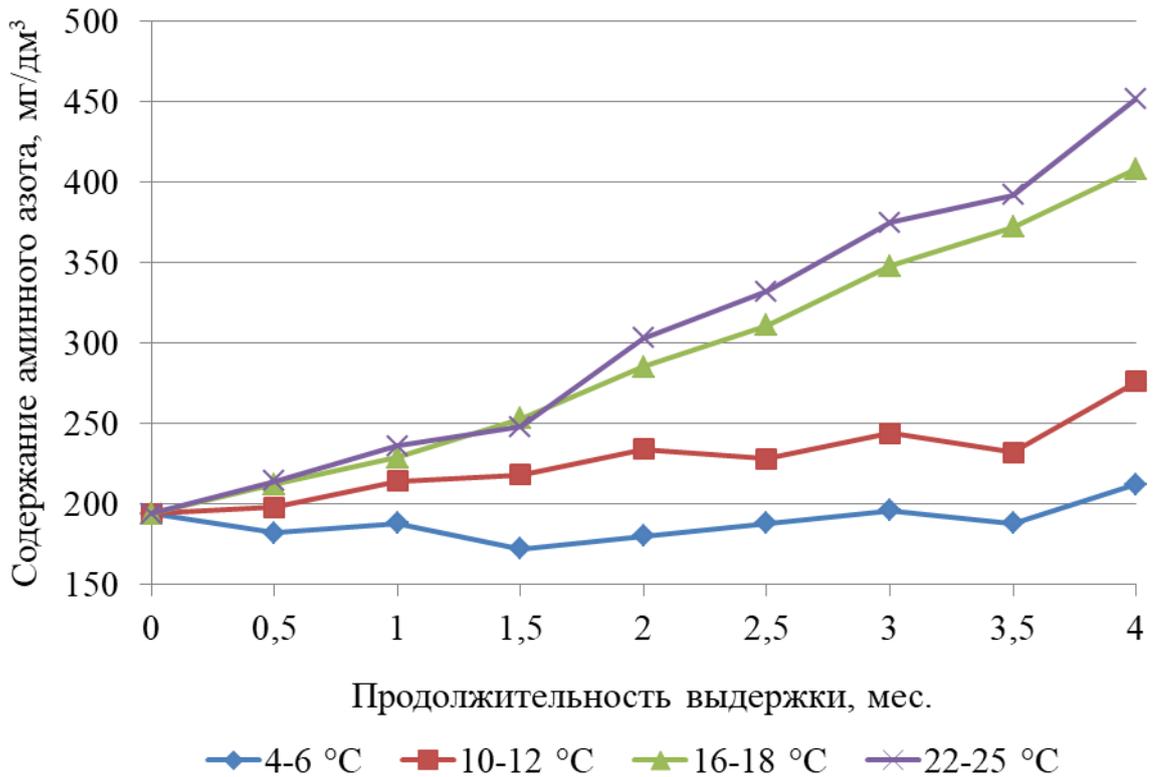


Рисунок 7 – График изменения концентрации аминного азота в зависимости от продолжительности выдержки и температуры

При повышении температуры выдержки до 16-18 °C возрастает активность массообменных процессов, что связано с деятельностью как экзогенных, так и эндогенных ферментов. Перемешивание виноматериала и дрожжевой биомассы при батонаже является дополнительным (механическим) фактором, ускоряющим переход азотистых соединений из дрожжевой клетки в среду.

Контакт виноматериала с дрожжами при температуре 22-25 °C протекал более активно, и количество аминного азота в виноматериале заметно возрастало. Это вызвано как большим лизисом клеток, так и повышением активности протеолитических ферментов и в дрожжах, и в виноматериале.

Проведена статистическая обработка экспериментальных данных с помощью программ персонального компьютера.

Обработка данных посредством корреляционного анализа показала, что существует прямая связь между температурой и накоплением аминного азота, с

коэффициентом корреляции  $r = 0,6$ , что является значимым на уровне  $p < 0,05$ . Взаимосвязь прослеживается также и между продолжительностью контакта и содержанием аминного азота, но коэффициент корреляции при этом составляет  $r = 0,3$ , однако уровень значимости  $p = 0,04$  (что меньше  $0,05$ ).

Визуализация данных представлена на рисунке 8. По распределению точек наблюдения (содержание аминного азота) и линии корреляции видно, что температура оказывает существенное влияние на накопление данного вещества.

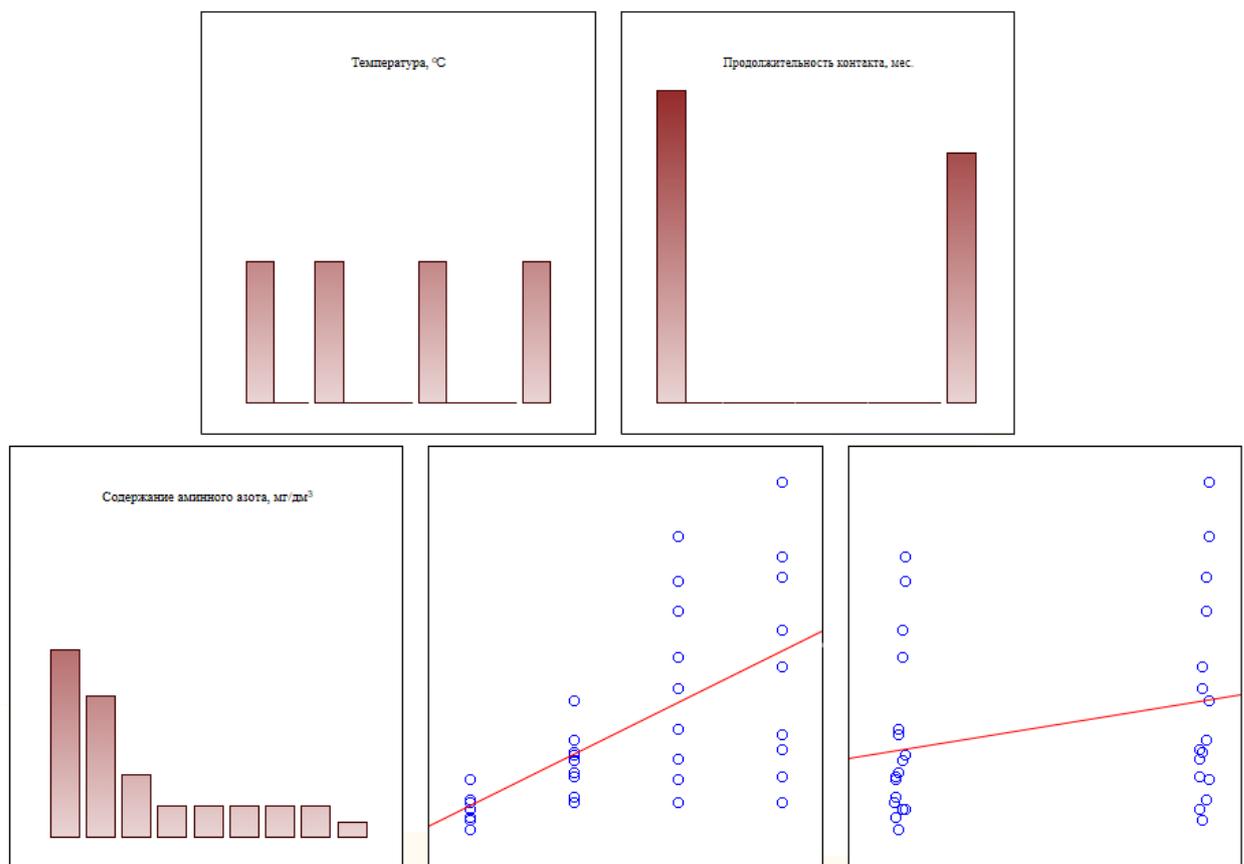


Рисунок 8 – Результаты корреляционного анализа взаимосвязи температуры и концентрации аминного азота

Регрессионный анализ данных также подтверждает прямое влияние на зависимую переменную (аминный азот) независимых – это температура и продолжительность выдержки с коэффициентом множественной корреляции  $r = 0,7$ . При этом вклады каждой независимой переменной (температура и

продолжительность контакта) в предсказание зависимой (накопление аминного азота) составляет 65 % и 35 % соответственно (таблица 4).

На основании данных таблицы 4 построено уравнение регрессии, которое отражено на трехмерной поверхности (рисунок 9). Данное уравнение регрессии можно в некотором роде использовать для прогноза значений функции отклика (зависимой переменной), в данном случае – изменения концентрации аминного азота.

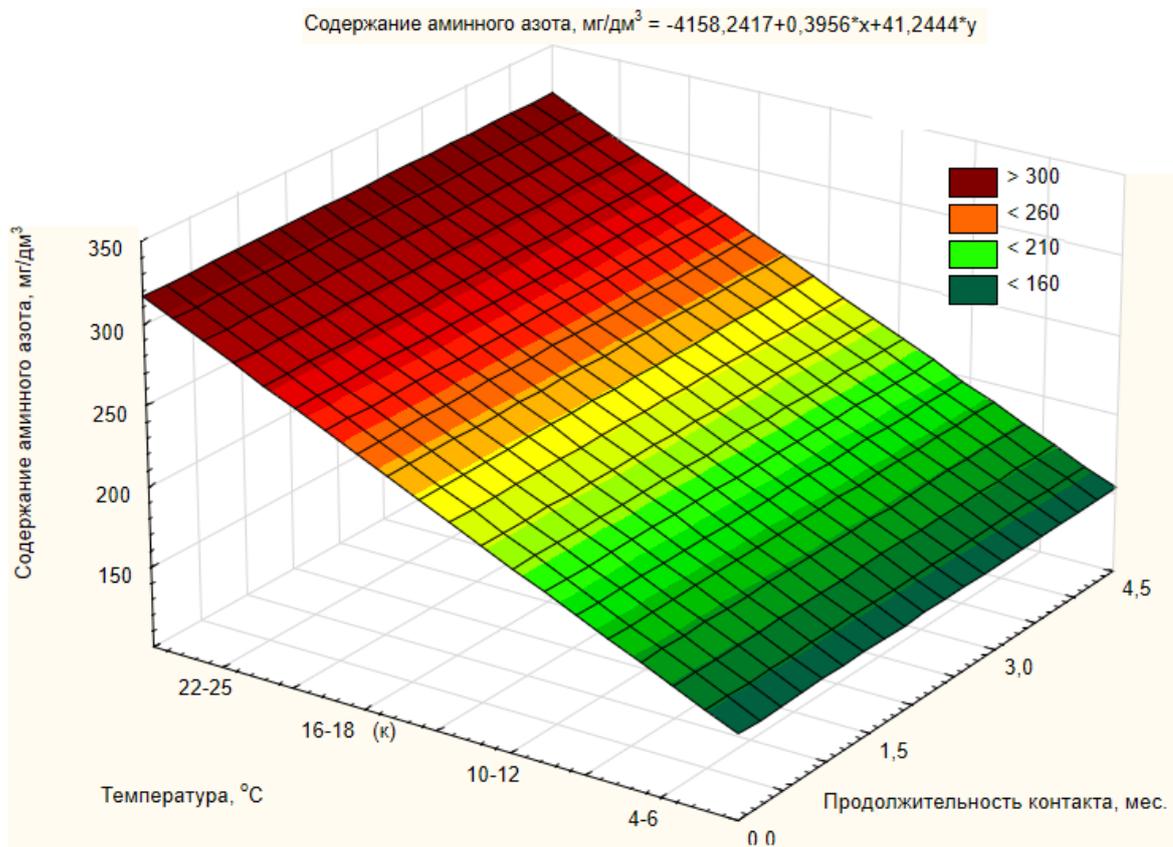


Рисунок 9 – Уравнение регрессии на трехмерной поверхности

Визуализация формирования зависимой переменной относительно независимых представлена на пространственной плоскостной проекции (рисунок 10). Анализ полученных данных свидетельствует о том, что увеличение продолжительности контакта виноматериала с биомассой дрожжей, равно как и увеличение температуры выдержки, способствует росту концентрации аминного азота.

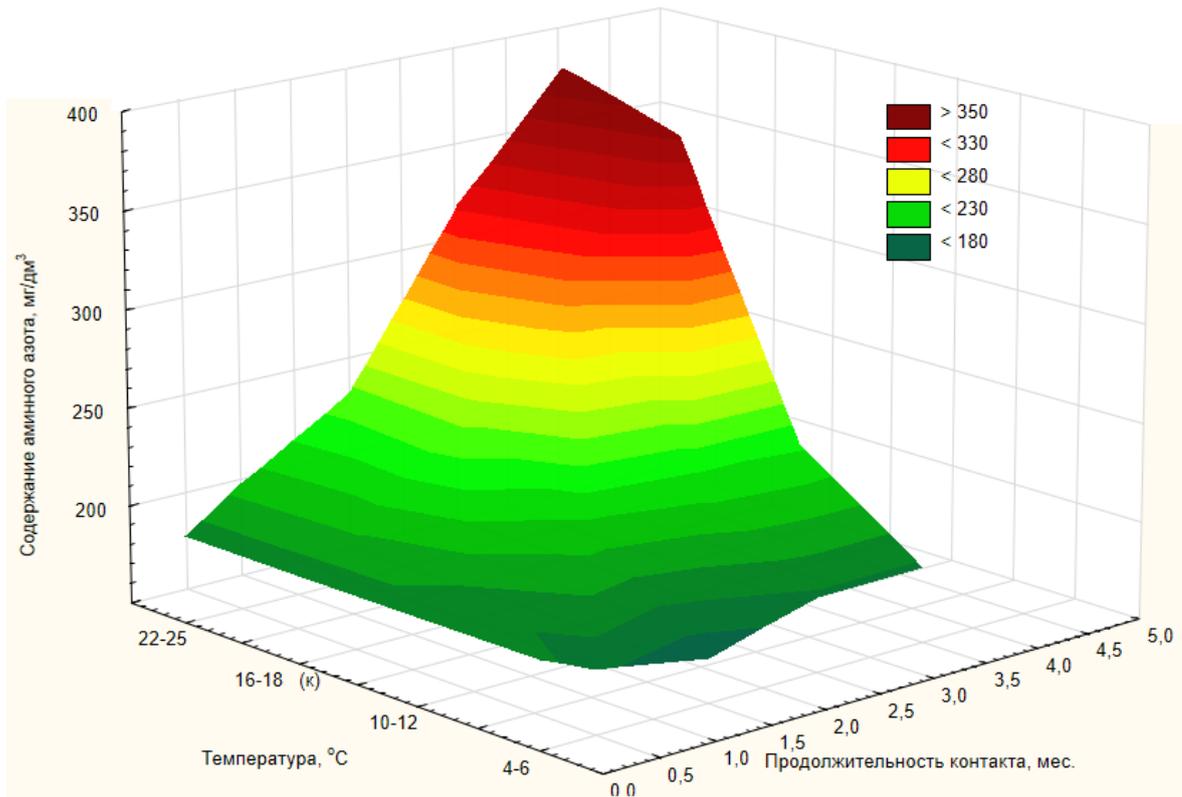


Рисунок 10 – Визуализация формирования зависимой переменной относительно независимых на пространственной плоскостной проекции

На рисунке 11 приведены графики, показывающие варьирование содержания аминного азота в зависимости от температуры при идентичных условиях выдержки (времени контакта). При температуре от 4 °С до 12 °С наблюдается скачкообразное увеличение аминного азота, а при более высокой температуре, накопление идет плавное.

График, приведенный на рисунке 12, является аналогом предыдущих, но более информативен за счет того, что изменение исследуемого вещества представлено на одном рисунке и относительно одной шкалы. Здесь прослеживается количественное варьирование данного показателя также относительно независимых переменных.

Агрегированный линейный график (рисунок 13) позволяет отображать последовательность средних рассматриваемой переменной (изменение аминного азота). На нем указаны средние значения варьируемого показателя для

определенной выборки (в данном случае температуры), а также диапазон значений изменяющейся переменной.

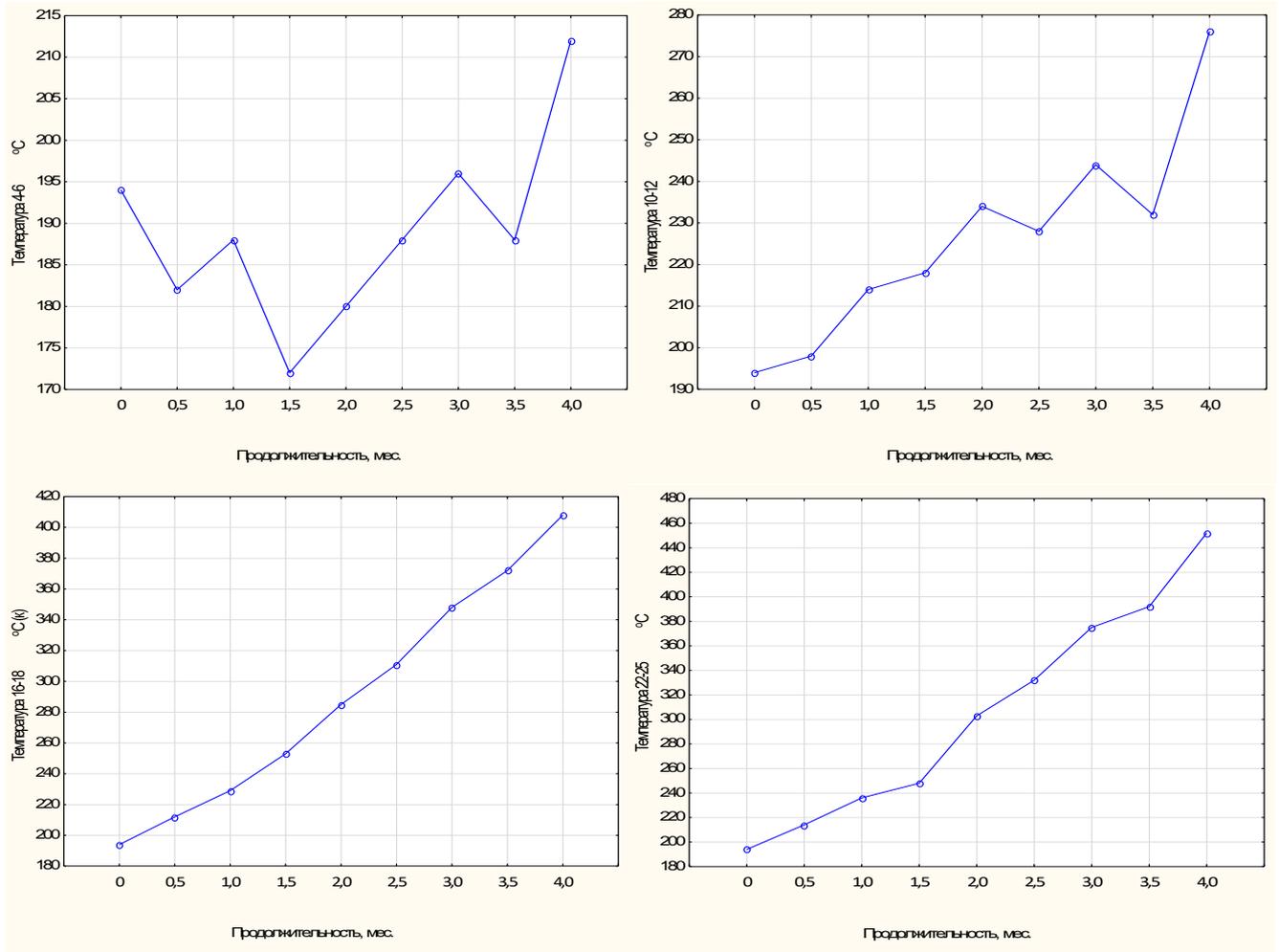


Рисунок 11 – Варьирование содержания аминного азота в зависимости от температуры при одинаковом времени контакта виноматериала с биомассой дрожжей

Полученные результаты свидетельствуют о прямолинейной зависимости между накоплением аминного азота и продолжительностью выдержки виноматериала на дрожжевом осадке. Сопоставляя результаты исследования с данными [20], для проведения батонажа выбран температурный режим 16-18 °С, обеспечивающий накопление такого количества аминного азота, которое оказывает положительное влияние на органолептические достоинства вина и не

способно провоцировать коллоидные помутнения.

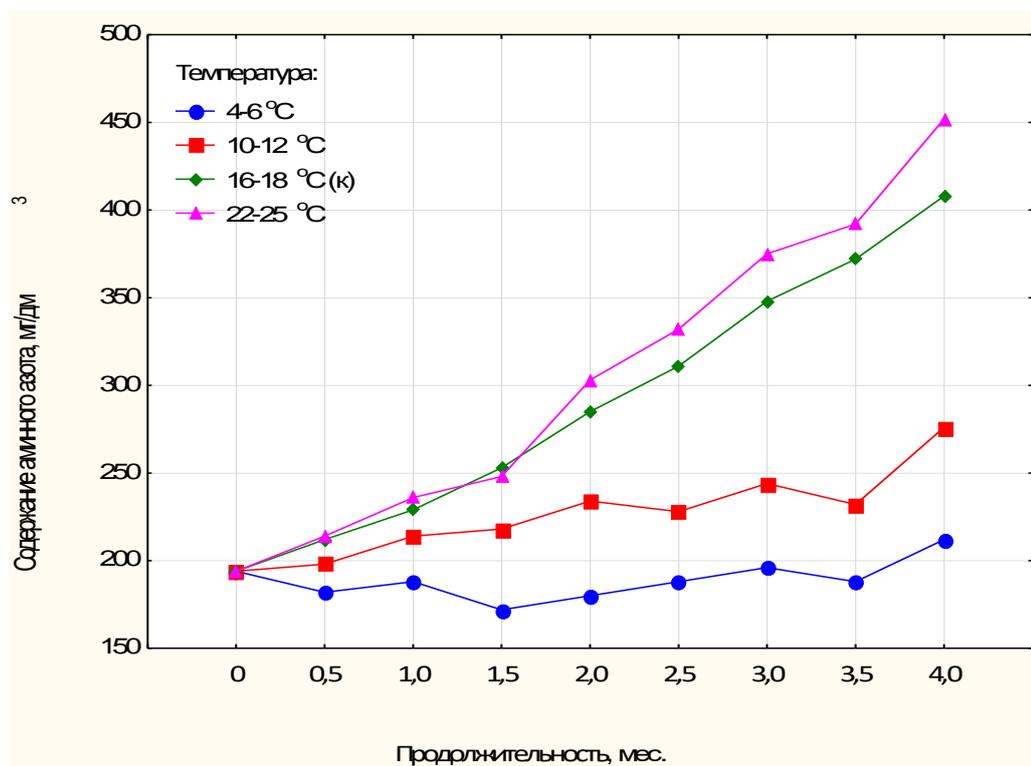


Рисунок 12 – Варьирование содержания аминного азота

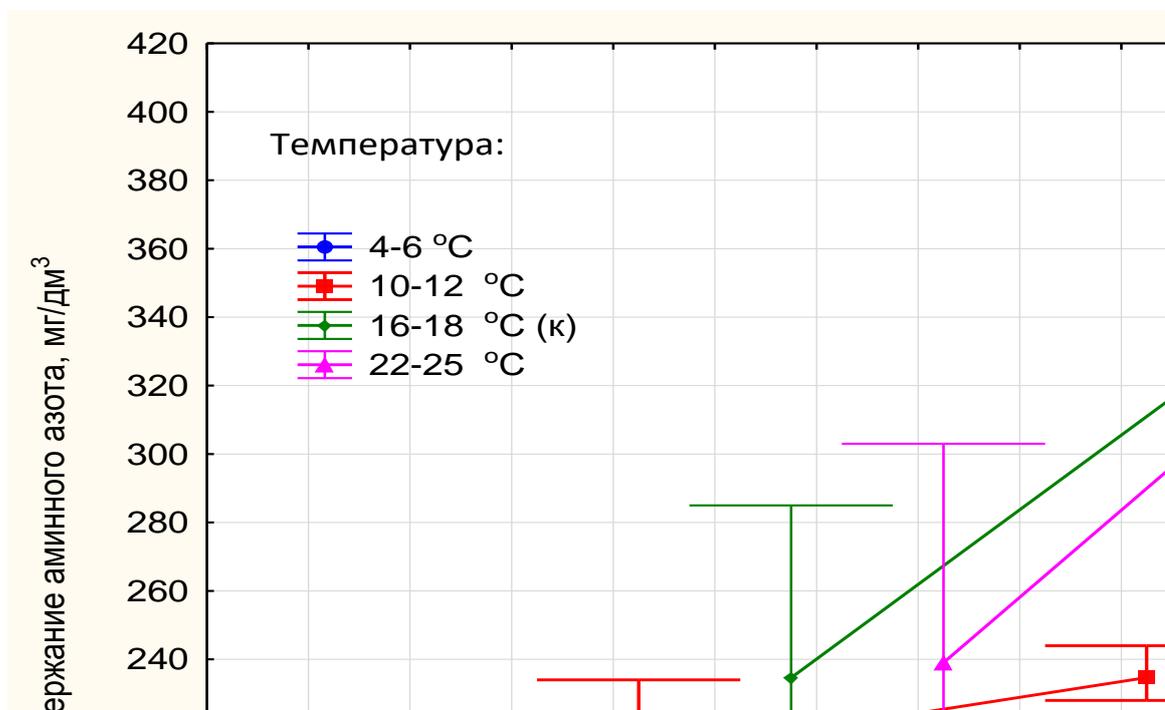


Рисунок 13 – Линейный график изменения содержания аминного азота

### 3.1.3 Динамика накопления аминокислот

Как было показано при анализе литературных данных, динамика азотистых соединений из дрожжевой клетки в виноматериал во многом зависит от расы дрожжей, а точнее – от генетических особенностей клетки, проницаемости ее мембран для различных соединений [3, 47, 48, 78, 80].

Белые столовые виноматериалы получали путем брожения виноградного суслу с использованием отечественных рас винных дрожжей Ркацители 6, Пино 14 и Кахури 7. Контакт молодого столового виноматериала с дрожжевой биомассой проводили в течение шести месяцев с однократным и двукратным перемешиванием. В производственных условиях перемешивание осуществляли механической мешалкой (800 об/мин).

Таблица 5 – Выделение аминокислот в среду в процессе выдержки виноматериала на дрожжевом осадке

Модел- льная среда	Ркацители 6	Пино 14	Кахури 7
<i>Без перемешивания</i>			
1 месяц	глутаминовая кислота, пролин, метионин, аргинин, лизин, аспарагиновая кислота, треонин	глутаминовая кислота, пролин, лейцин, метионин, аспарагиновая кислота, лизин, треонин	глутаминовая кислота, пролин, гистидин, серин, метионин, треонин, тирозин, цистеин
2 месяца	глутаминовая кислота, пролин, метионин, аргинин, лизин, аспарагиновая кислота, треонин, фенилаланин, тирозин, аланин, валин, серин, изолейцин, лейцин	глутаминовая кислота, пролин, гистидин, метионин, аспарагиновая кислота, аргинин, лизин, треонин, тирозин, аланин, валин, серин, фенилаланин, цистеин, изолейцин	глутаминовая кислота, пролин, гистидин, аргинин, аспарагиновая кислота, цистеин, лейцин, лизин, треонин, тирозин, аланин, серин, валин, триптофан, метионин, изолейцин

## Продолжение таблицы 5

<i>С однократным перемешиванием</i>			
1 месяц	глутаминовая кислота, пролин, метионин, аргинин, серин, лизин, аспарагиновая кислота, треонин	глутаминовая кислота, пролин, гистидин, аспарагиновая кислота, метионин, лизин, треонин, серин, цистеин	глутаминовая кислота, пролин, гистидин, серин, треонин, тирозин, цистеин, триптофан
2 месяца	глутаминовая кислота, пролин, метионин, аргинин, серин, лизин, аспарагиновая кислота, треонин, тирозин, аланин, валин, лейцин, фенилаланин, триптофан, цистеин, изолейцин	глутаминовая кислота, пролин, гистидин, метионин, аспарагиновая кислота, аргинин, лизин, лейцин, треонин, тирозин, аланин, валин, серин, фенилаланин, цистеин, изолейцин	глутаминовая кислота, пролин, гистидин, аспарагиновая кислота, аргинин, цистеин, лейцин, лизин, треонин, тирозин, аланин, серин, валин, триптофан, изолейцин, метионин

Полученные экспериментальные данные показали (таблица 5), что качественный состав переходящих аминокислот, секретлируемых дрожжевой клеткой, зависит от расы дрожжей и частоты перемешивания виноматериала с дрожжевым осадком [82].

На первом месяце выдержки без перемешивания в среду переходит семь-восемь аминокислот. При анализе образцов виноматериала, контактирующих с дрожжами в течение двух месяцев, обнаружены от 14 до 17 аминокислот в зависимости от расы дрожжей. Аналогичные исследования показали, что при перемешивании дрожжи активнее секретруют аминокислоты из клетки виноматериала. Уже на первом месяце выдержки в виноматериале, произведенном с применением расы Ркацители 6, обнаружен серин, у расы Пино 14 – гистидин, серин и цистеин, отсутствовавшие в вариантах без перемешивания. В виноматериале, полученном с применением расы Кахури 7, обнаружен триптофан.

При сопоставлении качественного состава аминокислот через два месяца контакта виноматериала с дрожжами можно отметить следующее:

- для расы Ркацители 6: перемешивание способствует секреции из клетки в среду триптофана и цистеина, отсутствовавших в варианте без перемешивания;
- для расы Пино 14: в варианте с перемешиванием идентифицирован лейцин, отсутствовавший в варианте без перемешивания.
- для расы Кахури 7: получен идентичный качественный состав аминокислот в обоих вариантах.

Таким образом, полученные результаты [83] показали, что качественный состав аминокислот при батонаже изменяется в зависимости от расы дрожжей, продолжительности контакта виноматериала с биомассой клеток и наличием перемешивания.

Дальнейшие исследования были проведены с применением реактивированных клеток рас дрожжей. В виноградное сусло в одинаковых количествах (2 г/дм<sup>3</sup>) вносили реактивированные клетки рас АСД Oenoferm (образец 1), Proelif (образец 2), Zymaflore X5 (образец 3), кроме контрольного образца (образец 4), в котором брожение проводили на спонтанной микрофлоре виноградной ягоды. Температура брожения 21-22 °С, исходная концентрация сахаров в исходном сусле составила 18,3 %. Брожение проводили в герметичных условиях.

В таблице 6 представлены экспериментальные данные [3, 80], свидетельствующие об изменении концентрации аминокислот в течение трех месяцев контакта виноматериала с дрожжевой биомассой при проведении батонажа.

Полученные результаты свидетельствуют о влиянии расы дрожжей на концентрацию как суммы, так и отдельных аминокислот. Так, в образце 1 (Oenoferm) установлено снижение суммы аминокислот, в образцах 2 и 4 (Proelif и спонтанная микрофлора соответственно) отмечено незначительное уменьшение, а в образце 3 (Zymaflore X5) – заметное увеличение суммарной концентрации

аминокислот (рисунок 14).

Таблица 6 – Изменение концентрации аминокислот, мг/дм<sup>3</sup>

Аминокислота	Второй месяц выдержки				Третий месяц выдержки			
	Номер образца							
	1	2	3	4	1	2	3	4
Аргинин	40,3	49,4	42,3	34,5	47,4	42,4	40,4	37,2
Тирозин	15,3	10,0	21,9	21,7	12,8	10,8	24,5	22,5
Фенил-аланин	2,0	1,4	3,5	19,2	2,3	1,0	3,1	16,4
Лизин	4,4	3,9	4,5	4,6	3,9	3,1	4,8	5,1
Гистидин	2,7	1,6	15,2	14,6	2,1	1,1	12,6	11,4
Изолейцин	0,8	-	-	8,7	0,2	0,1	0,1	8,7
Лейцин	12,4	13,1	12,7	9,2	12,9	14,6	14,2	10,5
Метионин	67,3	89,8	98,0	181,0	62,5	82,4	99,0	167,0
Валин	22,6	35,8	38,2	51,7	20,2	37,2	41,4	53,7
Пролин	371,3	387,3	478,9	310,7	353,0	402,0	501,0	344,0
Треонин	34,2	58,0	57,7	72,0	31,6	61,7	55,0	54,2
Серин	6,9	9,4	9,7	15,2	6,0	10,6	8,0	10,2
Аланин	22,7	31,8	34,6	53,7	24,3	34,4	33,6	50,4
Глицин	16,4	18,9	15,1	30,4	14,8	16,2	17,2	27,4
Триптофан	12,7	13,0	16,2	27,3	10,6	13,0	17,8	29,2
Сумма	632,0	723,4	848,5	854,5	604,6	730,6	872,7	847,9

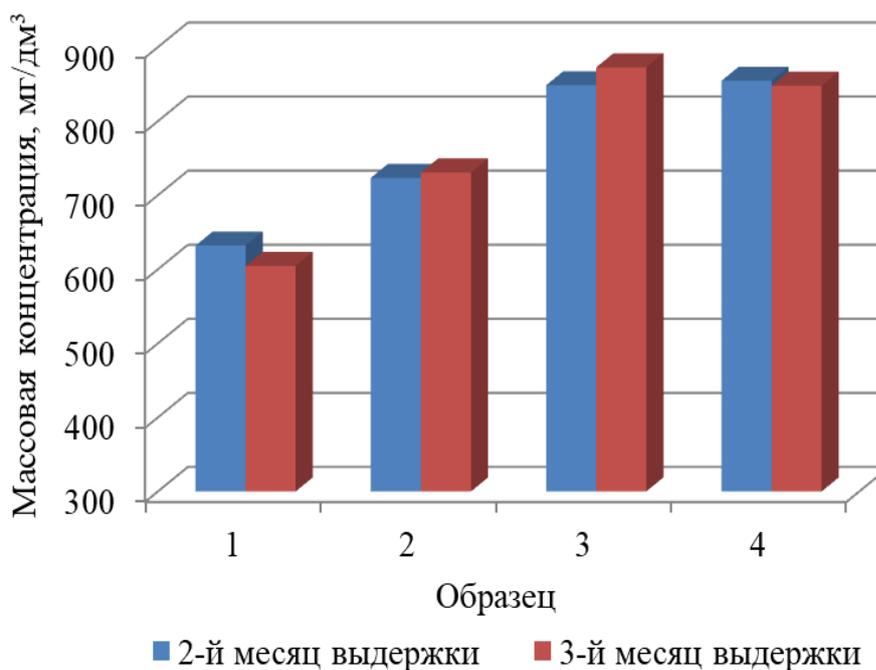


Рисунок 14 – Изменение суммарной концентрации аминокислот

Это свидетельствует о различной проницаемости мембраны клеточной оболочки дрожжей для азотистых соединений, в первую очередь, неодинаковой экскреции высокомолекулярных соединений из клетки в виноматериал, зависящей как от их молекулярной массы, так и от размеров молекулы, а также от пористости дрожжевой оболочки [3].

На рисунке 15 представлена динамика аминокислот, оказывающих большое влияние на органолептические показатели вина и формирование пороков [84, 85]. Выбор этих аминокислот не случаен. Метионин – серосодержащая аминокислота, являющаяся протектором сероводородного тона, предшественником цистина и креатина, мощным антиоксидантом. Кроме того, метионин, участвуя в различных биохимических процессах в клетке, может повышать уровень антиоксидантов (глутатиона). Треонин является важной составляющей многих белков дрожжевой клетки, регулирует образование и гидролиз липидов. Тирозин обладает умеренным антиоксидантным действием, связывает свободные радикалы (нестабильные молекулы), которые могут нанести вред клеткам и тканям [86].

Анализ полученных данных [87] свидетельствует о том, что в течение трех месяцев контакта наибольшее количество тирозина, участвующего в биохимических процессах окисления вина, выделяет раса *Zymaflore X5*, треонина – раса *Proelif* и спонтанная микрофлора. Высокая концентрация метионина – протектора сероводородного и мышиноного тонов [84, 88] выявлена при сбраживании сусла спонтанной микрофлорой.

Таким образом, полученные результаты [89] показали, что количественный состав аминокислот при батонаже изменяется в зависимости от расы дрожжей и условий проведения батонажа.

Дальнейшие исследования были проведены с применением расы ИОС 18-2007 (Франция), род *Saccharomyces cerevisiae* Killer (Bayanus). Выбор этой расы определяется ее широким распространением и применением винодельческими предприятиями России.

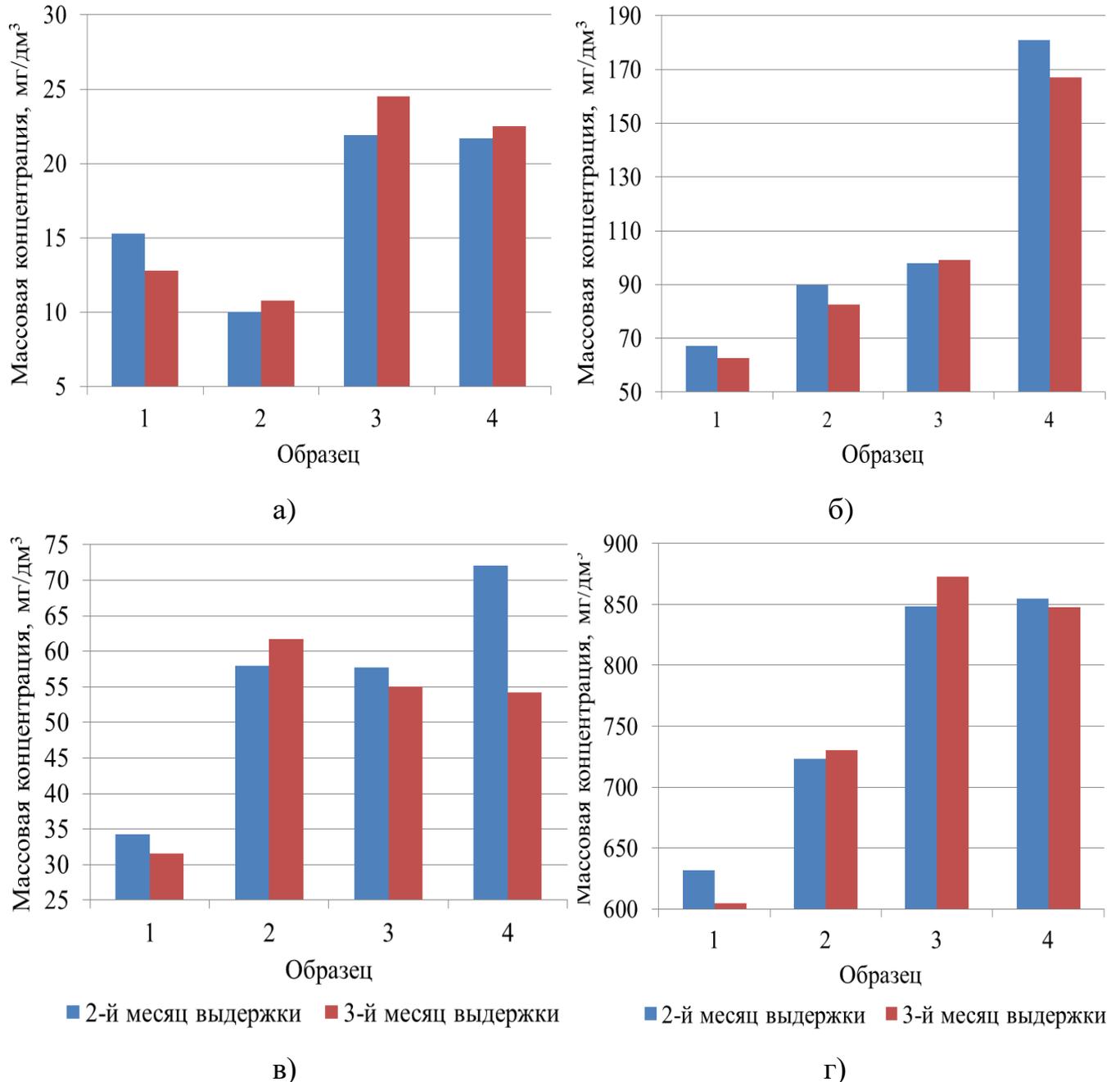


Рисунок 15 – Динамика тирозина (а), метионина (б), треонина (в) и суммы аминокислот (г) в процессе контакта виноматериалов с дрожжами

При этом наблюдения за динамикой аминокислот проводили в течение шести месяцев. На основании предварительных исследований [90] виноматериал и биомассу дрожжей перемешивали один раз в месяц, после чего проводили отбор проб для определения концентрации аминокислот. Контролем был образец, в котором батонаж не проводился. Результаты исследований представлены в

таблице 7.

Таблица 7 – Изменение аминокислотного состава, мг/дм<sup>3</sup>, виноматериала в процессе длительного контакта с дрожжевой биомассой

Наименование компонента	Продолжительность контакта виноматериала с дрожжевой биомассой, мес.						
	0	1	2	3	4	5	6
Экспериментальный образец с батонажем							
Аргинин	22,3	23,1	23,2	19,6	22,7	24,6	27,4
Лизин	5,4	-	0,7	1,3	2,7	5,5	7,6
α-аминомасляная	0,6	0,7	1,3	1,4	1,5	1,3	1,3
Тирозин	-	9,6	10,8	9,7	14,0	16,3	16,0
β-фенилаланин	0,8	4,3	9,0	7,5	10,2	12,4	11,2
Гистидин	3,5	9,8	8,7	11,5	16,2	14,6	12,8
Глютаминовая кислота	56,0	116,0	134,0	118,0	146,0	157,0	164,0
Лейцин	6,2	4,6	7,1	6,6	16,4	18,6	16,2
Метионин	9,7	5,7	5,8	8,6	9,8	11,4	13,2
Валин	3,2	3,5	2,7	3,8	3,5	4,7	4,4
Пролин	270,0	95,0	111,0	124,0	143,0	156,0	129,0
Треонин	11,2	6,5	6,2	10,2	12,3	13,8	15,2
Триптофан	2,6	3,4	2,5	5,1	5,4	6,0	6,1
Серин	1,5	4,4	2,9	4,4	5,3	7,2	7,4
α-аланин	5,6	10,4	8,6	9,1	15,7	19,3	24,2
Глицин	13,5	3,7	3,7	4,4	7,5	11,8	15,3
Цистин	0,1	0,1	0,3	0,2	0,1	-	-
Цистеин	0,1	0,1	0,3	0,3	0,2	0,1	-
Сумма	412,3	300,9	338,8	345,7	432,5	480,6	471,3
Контроль, без проведения батонажа							
Аргинин	22,3	19,4	18,6	20,3	22,8	24,7	26,2
Лизин	5,4	4,4	4,8	5,2	6,0	5,6	5,8
α-аминомасляная	0,6	0,3	0,2	-	-	-	-
Тирозин	-	-	0,6	1,1	4,3	7,2	7,0
β-фенилаланин	0,8	-	0,1	0,9	1,3	1,8	2,4
Гистидин	3,5	3,1	5,6	7,4	9,8	11,3	12,1
Глютаминовая кислота	56,0	54,0	62,0	76,0	92,0	112,0	131,0
Лейцин	6,2	5,4	3,7	4,2	6,8	9,2	11,0
Метионин	9,4	9,2	9,1	9,0	8,8	9,1	9,0
Валин	3,2	3,2	2,8	3,0	3,2	3,7	3,4

Продолжение таблицы 7

Наименование компонента	Продолжительность контакта виноматериала с дрожжевой биомассой, мес.						
	0	1	2	3	4	5	6
Пролин	270,0	212,0	224,0	268,0	323,0	349,0	408,0
Треонин	11,2	6,5	7,3	8,2	9,7	11,0	11,2
Триптофан	2,6	2,0	2,5	3,1	3,7	4,1	5,1
Серин	1,5	3,6	3,9	4,2	4,8	5,5	6,2
$\alpha$ -аланин	5,5	5,4	5,6	6,4	6,7	8,5	11,7
Глицин	13,5	13,7	13,7	15,4	16,5	18,8	18,3
Цистин	0,1	0,2	0,3	0,4	0,4	0,7	0,9
Цистеин	0,1	0,1	0,4	0,6	0,6	0,7	0,7
Сумма	411,9	342,5	365,2	433,4	520,4	582,9	670,0

Проведенные исследования показали, что через 6 месяцев контакта виноматериала с дрожжевой биомассой изучаемые аминокислоты можно разделить на группы в зависимости от проведения или отсутствия батонажа:

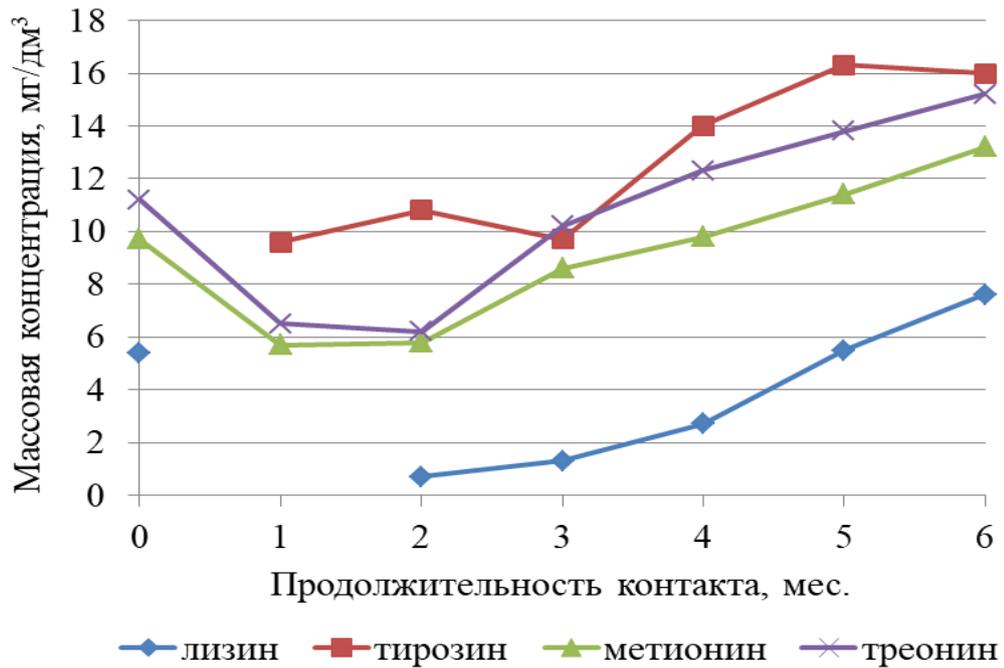
- аминокислоты, концентрация которых практически идентична при батонаже или его отсутствии: аргинин, гистидин, метионин, валин, триптофан, серин, глицин;

- аминокислоты, концентрация которых при проведении батонажа увеличилась: лизин, пролин, цистин, цистеин;

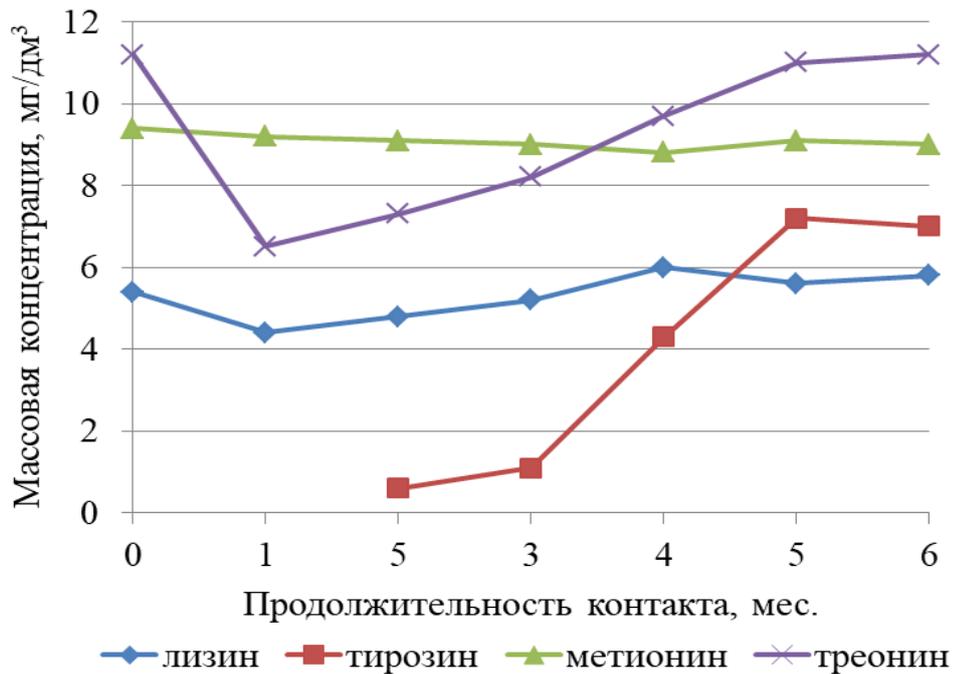
- аминокислоты, концентрация которых при проведении батонажа уменьшилась:  $\alpha$ -аминомасляная и глютаминовая кислоты, тирозин,  $\beta$ -фенилаланин, лейцин,  $\alpha$ -аланин [91].

На рисунке 16 представлена динамика аминокислот, оказывающих большое влияние на органолептические показатели вина и формирование пороков.

Между тем, динамика аминокислот в процессе выдержки различается. Так, при отсутствии батонажа для большинства аминокислот характерно незначительное увеличение концентрации в течение всего периода наблюдений (6 месяцев). При этом концентрация цистина возросла в семь раз; цистеина – в девять раз,  $\beta$ -фенилаланина и серина – в три раза, глютаминовой кислоты,  $\alpha$ -аланина и лейцина – более чем в два раза.



а)



б)

Рисунок 16 – Динамика аминокислот с проведением батонажа (а) и без проведения батонажа (б)

Иная динамика отмечена при проведении батонажа: количество большинства аминокислот изменялось волнообразно. Причем, прирост или,

напротив, уменьшение концентрации аминокислот соответствует времени проведения батонажа. Это позволяет считать, что перемешивание виноматериала с дрожжевой биомассой приводит к активации массообменных процессов между клеткой и средой [6, 79]. Поступление небольшого количества воздуха при перемешивании приводит к окислению некоторых аминокислот и снижению их концентрации. Кроме того, жизнедеятельные или угнетенные дрожжи после перемешивания могут потреблять часть аминокислот для своего развития и поддержания физиологической активности. В результате механического воздействия при перемешивании частично повреждается клеточная оболочка и происходит переход клеточного содержимого в вино. Под действием ферментных систем трансформируются комплексы высокомолекулярных соединений, что приводит к увеличению количества аминокислот [80, 88].

Полученные результаты позволяют считать, что по скорости выделения в среду при батонаже аминокислоты можно расположить в следующий ряд:  $\acute{\alpha}$ -аминомасляная кислота > глутаминовая кислота >  $\alpha$ -аланин > лейцин. Концентрация остальных аминокислот увеличилась в меньшей степени или снижалась.

Таким образом, представленные экспериментальные данные свидетельствуют о существенном различии в процессах автолиза в зависимости от условий контакта виноматериалов с дрожжевой биомассой.

Дальнейшие исследования [81] были проведены с применением белого столового виноматериала из сорта винограда Совиньон, который был получен в результате сбраживания суслу с применением АСД вида *Saccharomyces cerevisiae* Killer (Bayanus) расы ИОЦ 18-2007 (Франция). По окончании брожения виноматериал перемешивали с биомассой дрожжей, делили на четыре образца, которые выдерживали при различной температуре в течение четырех месяцев: 1 – 4-6 °С; 2 – 10-12 °С; 3 – 16-18 °С (контроль); 4 – 22-25 °С. Батонаж проводили один раз в месяц путем перемешивания в течение 30-40 минут.

Пробы отбирали после проведения батонажа через один, два, три и четыре

месяца контакта виноматериала с дрожжевой биомассой. Анализ полученных данных (таблица 8) позволяет сделать следующие выводы. При температуре выдержки 4-6 °С наблюдалось потребление дрожжами ряда аминокислот – аргинин, лизин,  $\alpha$ -аминомасляная кислота,  $\beta$ -фенилаланин, лейцин, метионин, валин, при этом, несмотря на проведение батонажа, к завершению выдержки в вине по-прежнему отсутствовали лизин,  $\alpha$ -аминомасляная кислота, тирозин.

Таблица 8 – Изменение аминокислотного состава виноматериалов при батонаже, мг/дм<sup>3</sup>, в зависимости от температуры

Наименование компонента	Продолжительность контакта виноматериала с дрожжевой биомассой, мес.							
	1	2	3	4	1	2	3	4
	Температура 4-6 °С				Температура 10-12 °С			
Аргинин	18,8	15,0	12,2	8,9	19,6	16,5	13,9	15,6
Лизин	2,4	-	-	-	1,2	1,7	3,4	4,2
$\alpha$ -аминомасляная	0,1	-	-	-	0,1	0,2	0,2	0,3
Тирозин	-	-	-	-	0,3	0,4	0,6	1,6
$\beta$ -фенилаланин	0,7	-	-	0,9	9,5	10,2	12,4	12,2
Гистидин	1,2	1,1	0,8	0,9	1,4	1,7	2,3	4,0
Глютаминовая кислота	56,0	54,0	50,0	52,0	58,0	66,0	78,0	84,0
Лейцин	6,5	4,6	2,0	-	5,6	5,4	8,3	10,6
Метионин	4,7	3,4	3,0	2,8	4,6	5,8	7,4	8,2
Валин	3,2	1,2	-	-	-	1,8	2,7	4,1
Пролин	244,0	223,0	219,0	214,0	258,0	280,0	319,0	348,0
Треонин	7,2	5,5	6,2	7,4	5,2	8,3	11,8	14,2
Триптофан	1,6	1,4	1,4	1,5	2,1	2,4	3,6	4,2
Серин	-	-	-	0,9	0,4	0,3	0,7	1,4
$\alpha$ -аланин	3,6	5,4	6,2	6,6	4,1	6,7	9,3	11,2
Глицин	1,5	1,7	2,4	3,7	4,6	7,7	9,8	11,3
Цистин	0,1	0,1	0,1	-	-	0,1	0,3	0,5
Цистеин	0,1	-	-	0,1	0,2	0,3	0,3	0,7
Сумма	351,7	316,4	303,3	299,7	374,9	415,5	484,0	536,3
	Температура 16-18 °С				Температура 22-25 °С			
Аргинин	22,4	20,4	21,6	18,8	21,3	22,5	24,0	25,9
Лизин	5,4	5,4	6,8	7,4	5,7	6,9	8,6	10,8
$\alpha$ -аминомасляная	0,3	0,3	0,4	0,4	0,3	0,3	0,5	0,9

Продолжение таблицы 8

Наименование компонента	Продолжительность контакта виноматериала с дрожжевой биомассой, мес.							
	1	2	3	4	1	2	3	4
	Температура 16-18 °С				Температура 22-25 °С			
Тирозин	1,2	1,6	3,2	5,6	1,4	4,3	7,8	12,0
β-фенилаланин	0,9	1,2	1,5	2,3	2,1	3,1	5,1	7,8
Гистидин	2,4	4,1	5,8	8,1	4,7	6,0	8,5	9,0
Глютаминовая кислота	64,0	74,0	88,0	92,0	76,0	92,0	112,0	121,0
Лейцин	6,5	7,4	9,2	13,6	6,5	8,8	12,5	16,0
Метионин	5,4	7,2	8,6	10,1	6,2	8,8	10,1	13,0
Валин	3,0	4,6	6,2	7,8	3,6	5,2	7,7	9,4
Пролин	263,0	298,0	336,0	388,0	272,0	294,0	354,0	398,0
Треонин	7,2	9,5	10,8	12,3	8,7	11,7	14,0	17,2
Триптофан	2,4	2,8	4,1	5,0	3,2	3,7	4,8	6,7
Серин	1,2	2,6	4,1	4,9	2,2	4,1	5,7	6,4
α-аланин	5,5	6,8	9,2	12,6	7,4	10,7	14,5	16,7
Глицин	11,5	13,7	15,6	17,7	15,2	17,5	19,0	21,3
Цистин	0,1	0,2	0,3	0,3	0,1	0,2	0,3	0,6
Цистеин	-	0,1	0,2	0,3	0,2	0,3	0,5	0,8
Сумма	402,4	459,9	531,6	607,2	436,8	500,1	609,6	693,5

Количество таких аминокислот, как гистидин, глютаминовая кислота, пролин, треонин, триптофан, цистин, цистеин изменялось несущественно. В то же время отмечено увеличение концентрации аланина, глицина, появление серина на четвертом месяце выдержки.

На рисунке 17 представлена динамика суммы аминокислот в исследуемых виноматериалах при батонаже.

Повышение температуры выдержки до 16-18 °С и более привело к заметному увеличению концентрации всех аминокислот, хотя роль каждой из них в сложении качества вина оценивается по-разному. Так, увеличение концентрации аминокислот при температуре выдержки 16-18 °С способствовало улучшению качества вина уже на втором-третьем месяцах выдержки: наблюдалась гармония и мягкость вкуса, проявление сортовых особенностей винограда, окраска вина варьировала от телесно-соломенной до соломенной с легким зеленоватым

оттенком.

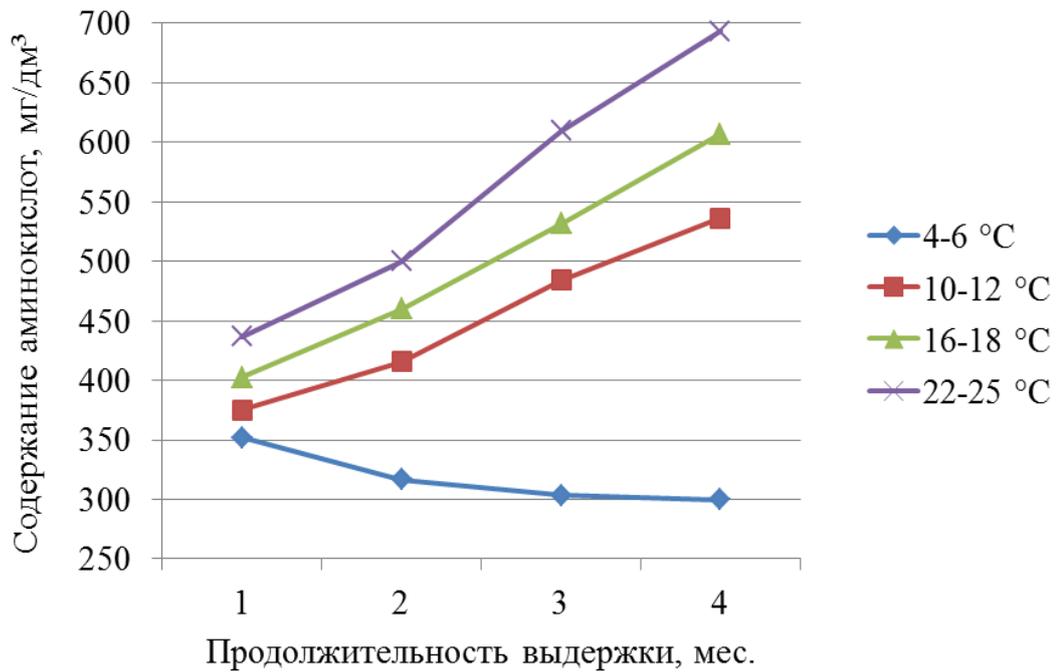


Рисунок 17 – Динамика изменения суммарной концентрации аминокислот в зависимости от продолжительности выдержки и температуры

На четвертом месяце контакта виноматериала с биомассой дрожжей заметного улучшения или снижения качества вина не выявлено. Это позволяет считать, что продолжительность контакта дрожжей и виноматериала при температуре выдержки 16-18 °C должна составлять два-три месяца, не более.

Повышение температуры выдержки до 22-25 °C привело к появлению золотистых оттенков в окраске уже на втором месяце выдержки, что связано с протеканием окислительных процессов, в том числе с участием аминокислот. Известно, что ряд аминокислот вина активно участвуют в переносе электронов в реакциях окисления-восстановления, например, цистин-цистеин. В присутствии оксидаз окислению подвергается тирозин, частично – триптофан [33, 53, 80, 88]. Следовательно, повышение температуры выдержки виноматериала до 22-25 °C нежелательно в связи с усилением окислительных процессов.

Таким образом, представленные экспериментальные данные

свидетельствуют о существенном различии в процессах автолиза в зависимости от условий контакта виноматериалов с дрожжевой биомассой. Считаем целесообразным проведение батонажа в технологии белых столовых вин при температуре 16-18 °С в течение двух-трех месяцев с периодическим перемешиванием.

### 3.1.4 Динамика накопления липидов

Виноградное осветленное сусло из сорта винограда Совиньон сульфитировали до общего содержания диоксида серы 70 мг/дм<sup>3</sup> и сбраживали с применением АСД вида *Saccharomyces cerevisiae* Killer (Bayanus) расы ИОЦ 18-2007 (Франция). По окончании брожения виноматериал перемешивали с биомассой дрожжей и делили на четыре образца: 1 – перемешивали один раз в неделю; 2 – перемешивали один раз в месяц; 3 – перемешивали один раз в два месяца; 4 – не перемешивали (контроль). Массовая концентрация исследуемых компонентов липидного комплекса до батонажа составляла, мг/дм<sup>3</sup>: фосфолипиды – 10,2; пигменты – 9,7; стеринны – 9,7; моноглицериды – 4,0; диглицериды – не идентифицированы; жирные кислоты – 9,0; триглицериды – 4,4; эфиры стериннов – не идентифицированы. Сумма липидов составляла 47,0 мг/дм<sup>3</sup>. Продолжительность батонажа составляла шесть месяцев.

Проведенные исследования (таблица 9) показали, что режимы батонажа – частота перемешивания и продолжительность контакта виноматериала с дрожжевой биомассой – оказывают существенное влияние на концентрацию как отдельных групп липидов, так и их сумму (рисунок 18) [92].

Установлено, что частое перемешивание виноматериала и дрожжевой биомассы (образец 1) приводит к увеличению концентрации всех групп липидов в виноматериале. Это наглядно отражено на рисунке 18 (столбцы синего цвета).

В образце 3 (редкое перемешивание – 1 раз в 2 месяца) концентрация липидов через 1 месяц батонажа идентична контролю.

Таблица 9 – Изменение концентрации липидов, мг/дм<sup>3</sup>

Липиды	Номер образца			
	1	2	3	4 (контроль)
1 месяц				
Фосфолипиды	11,4	10,7	10,7	10,7
Пигменты	14,5	11,5	11,0	11,8
Стерины	14,7	10,0	9,7	10,1
Моноглицериды	8,7	5,4	4,6	4,1
Диглицериды	1,2	0,9	-	-
Жирные кислоты	11,7	10,8	10,2	9,3
Триглицериды	6,2	5,2	4,8	4,8
Эфиры стеринов	0,3	0,1	следы	следы
Сумма липидов	68,7	54,6	51,0	50,8
2 месяца				
Фосфолипиды	14,2	12,7	11,8	11,4
Пигменты	12,7	12,2	11,8	11,6
Стерины	12,0	9,4	9,0	9,3
Моноглицериды	10,6	8,2	6,7	6,4
Диглицериды	2,2	1,5	0,8	0,9
Жирные кислоты	15,2	14,2	13,0	12,8
Триглицериды	8,2	6,8	6,5	6,5
Эфиры стеринов	1,2	0,8	0,6	0,6
Сумма липидов	76,3	65,8	60,2	59,5
3 месяца				
Фосфолипиды	16,8	14,0	12,6	12,6
Пигменты	13,2	12,5	11,4	11,0
Стерины	12,8	9,6	9,6	9,6
Моноглицериды	12,1	8,8	7,7	7,1
Диглицериды	2,6	1,6	1,1	1,1
Жирные кислоты	27,6	18,6	15,9	15,7
Триглицериды	9,4	8,7	7,5	7,2
Эфиры стеринов	1,5	0,9	0,7	0,7
Сумма липидов	96,0	74,7	66,5	65,0
4 месяца				
Фосфолипиды	17,6	16,3	14,8	14,2
Пигменты	11,4	10,2	10,0	10,2
Стерины	10,2	9,6	9,6	10,2
Моноглицериды	14,0	11,2	9,5	8,7
Диглицериды	3,1	1,8	1,3	1,3
Жирные кислоты	28,3	23,7	17,2	16,9
Триглицериды	11,0	10,1	8,7	7,9

Продолжение таблицы 9

Липиды	Номер образца			
	1	2	3	4 (контроль)
Эфиры стеринов	2,0	1,2	0,9	0,8
Сумма липидов	97,6	84,1	72,0	70,2
5 месяцев				
Фосфолипиды	22,7	20,4	16,0	16,9
Пигменты	11,8	9,4	8,9	10,2
Стерины	10,2	9,2	9,6	10,2
Моноглицериды	17,4	14,5	10,3	11,2
Диглицериды	3,6	2,0	1,6	1,5
Жирные кислоты	30,8	28,2	24,7	25,6
Триглицериды	6,2	7,3	8,2	7,6
Эфиры стеринов	1,8	1,5	0,9	0,9
Сумма липидов	104,5	92,5	80,2	84,1
6 месяцев				
Фосфолипиды	18,5	20,0	17,7	18,4
Пигменты	9,8	9,7	8,9	9,5
Стерины	7,2	8,8	9,9	9,2
Моноглицериды	13,7	14,5	11,7	11,7
Диглицериды	4,1	3,1	1,8	1,9
Жирные кислоты	26,5	27,3	26,4	27,8
Триглицериды	6,2	7,3	8,2	7,6
Эфиры стеринов	1,2	1,5	1,2	1,2
Сумма липидов	87,2	92,2	85,8	87,3

В дрожжевых клетках липиды, в основном, связаны с плазматической мембраной клеточной стенки [93]. Небольшое количество присутствует также в цитоплазме. Во время автолиза липиды расщепляются до насыщенных жирных кислот, включающих от восьми до шестнадцати атомов углерода. После освобождения эти жирные кислоты могут быть вовлечены в образование сложных эфиров, альдегидов и других летучих соединений. Жирные кислоты и их эфиры могут оказать существенное влияние на вкус и аромат столового вина.

Динамика жирных кислот в исследованных образцах виноматериалов за время проведения батонажа представлена на рисунке 19. Особенно заметен прирост количества жирных кислот в образцах 1 и 2.

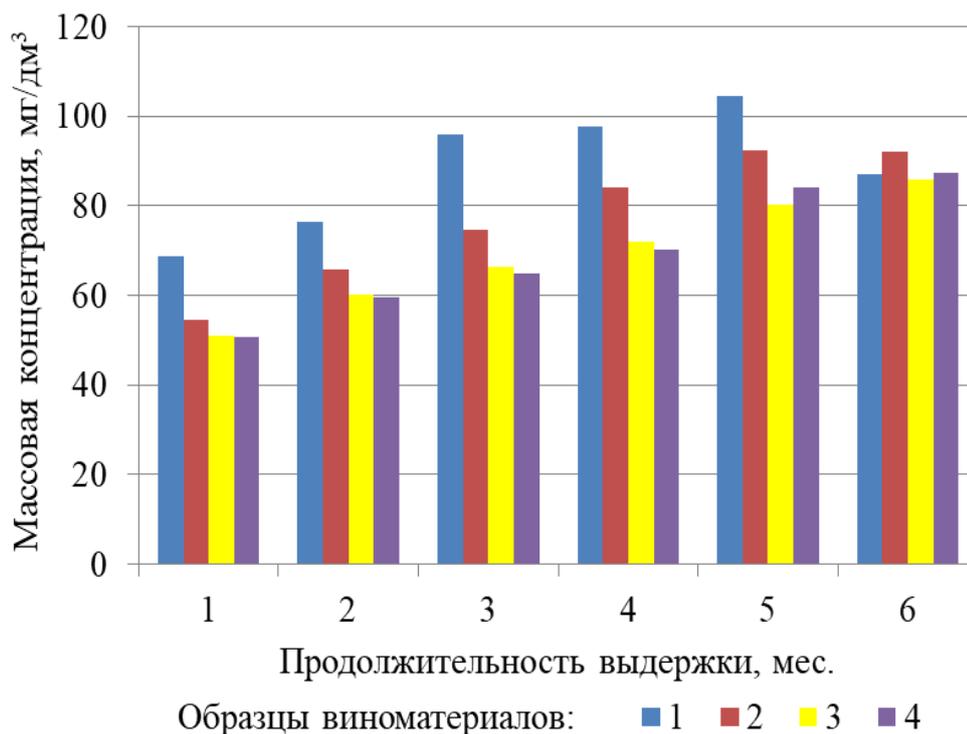


Рисунок 18 – Динамика содержания суммы липидов, где: 1 – перемешивание один раз каждую неделю; 2 – перемешивание один раз в месяц; 3 – перемешивание один раз в два месяца; 4 – без перемешивания (контроль)

На четвертом месяце контакта в образце 1 отмечено проявление нежелательных процессов, связанных с изменением вкуса и окраски вина, вызванных окислением компонентов, в том числе липидов.

Известно, что батонаж в некоторой степени идентичен небольшой аэрации [94], т. е. доступу кислорода воздуха к выдерживаемому вино материалу. Аэрация оказывает заметное влияние на накопление липидов дрожжами, кроме того, изменяет отдельные липидные фракции и даже состав жирных кислот. Обычно образование дрожжами липидов и их переход из клетки в среду связаны в большой степени с дыхательной активностью клетки. Ингибирование процессов дыхания дрожжей, имеющее место при продолжительной выдержке в анаэробных условиях, может оказывать влияние на процессы окисления, связанные с НАДФ [32, 33]. Это, в свою очередь, препятствует превращению насыщенных жирных

кислот в ненасыщенные, что свидетельствует о протекании окислительных процессов.

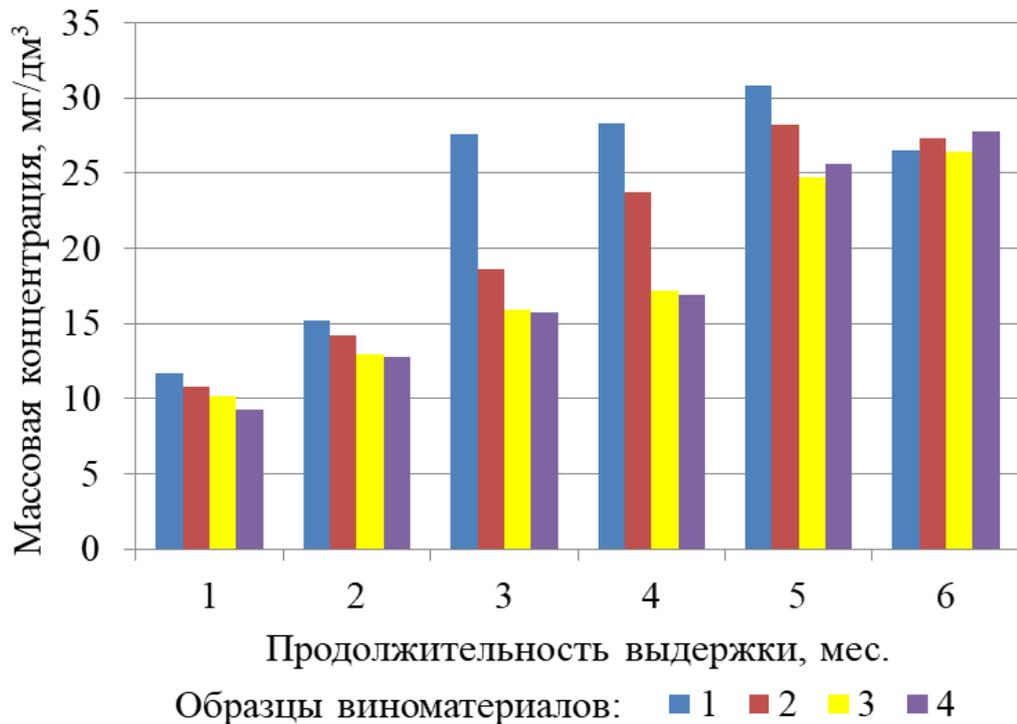


Рисунок 19 – Динамика жирных кислот в процессе батонажа, где:  
 1 – перемешивание один раз каждую неделю; 2 – перемешивание один раз в месяц; 3 – перемешивание один раз в два месяца; 4 – без перемешивания (контроль)

На шестом месяце контакта виноматериала с дрожжевой биомассой выявлено снижение концентрации суммы липидов в образцах 2 и, особенно 1, преимущественно за счет жирных кислот, стеринов и фосфолипидов. В то же время в образцах 3 и 4 секреция липидов всех групп (за исключением стеринов) из клетки в среду продолжалась, хотя прирост их концентрации был менее существенным в сравнении с четвертым и пятым месяцами контакта виноматериалов с дрожжами.

Таким образом, представленные материалы исследований свидетельствуют о существенном влиянии условий проведения батонажа на липидный комплекс виноматериалов.

### **3.1.5 Динамика выделения ферментов из дрожжевой клетки в среду**

Ферменты вина представлены отдельными ферментами виноградной ягоды и ферментными системами дрожжей, которые при автолизе дрожжевых клеток переходят в вино. Значение ферментов дрожжей состоит в разрушении коллоидной системы сусла, освобождении и переходе в сусло эфирных масел винограда и в проведении спиртового брожения с образованием продуктов, формирующих букет и вкус вина.

Особое значение в виноделии имеют протеолитические ферменты – протеиназы, которые расщепляют белок до пептидов, и пектолитические ферменты, расщепляющие пектиновые вещества.

#### **3.1.5.1 Исследование секреции протеиназ и пектиназ из дрожжевой клетки в среду (виноматериал) при выдержке на дрожжевом осадке**

Для оценки секреции протеиназ из дрожжевой клетки в виноматериал проводили его продолжительную выдержку на дрожжевом осадке в течение шести месяцев. В этот период времени, согласно данным [95, 96], наблюдается наибольшая активность литических процессов, сопровождающихся переходом содержимого дрожжевой клетки в среду. Определяли активность протеиназ в дрожжевой гуще, а не ее прирост в виноматериале. Это объясняется тем, что в виноматериале протеиназы активно участвуют в различных биохимических реакциях, в связи с чем их активность быстро меняется, что увеличивает погрешность опыта.

В процессе эксперимента были соблюдены следующие условия:

– герметичность емкости, в которой выдерживали виноматериал, для исключения протекания окислительных и других реакций, вызванных присутствием кислорода и активацией окислительно-восстановительных процессов;

– поддержание температуры вина на уровне 16-18 °С, при которых вероятность возникновения пороков вина минимальна [84];

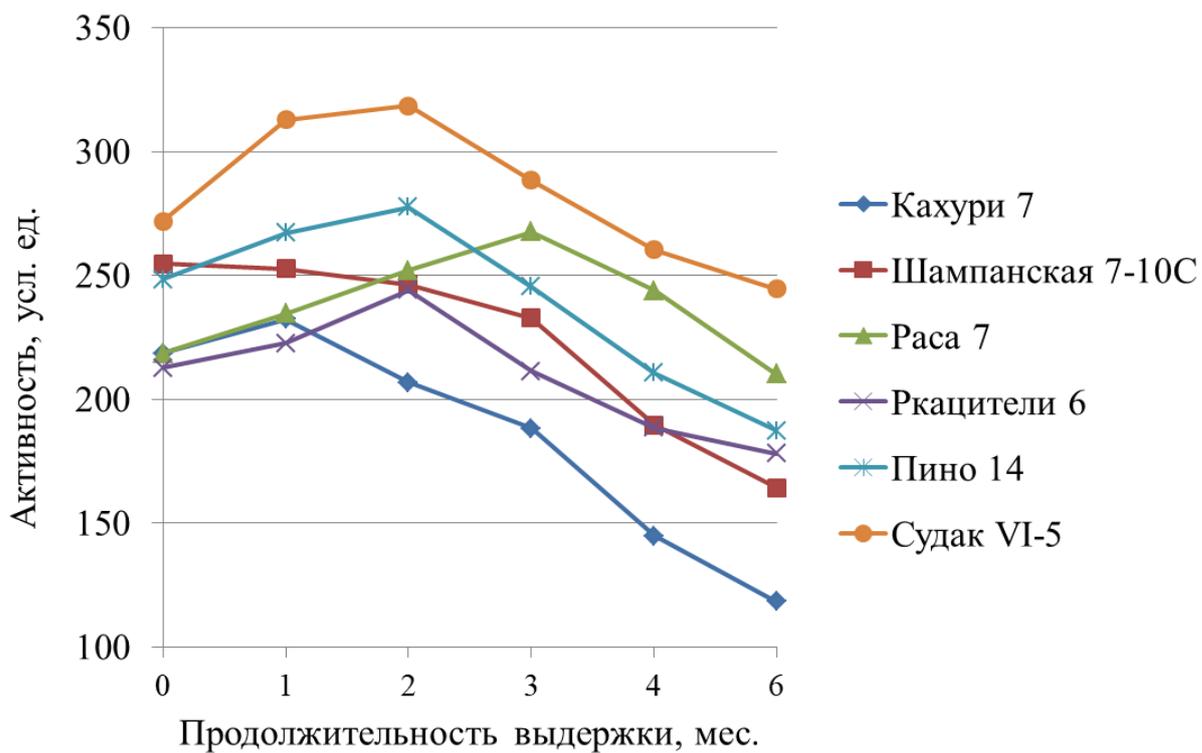
– одинаковое освещение образцов виноматериала с целью обеспечения одинаковых условий ультрафиолетового солнечного воздействия, известного как ускоряющий фактор трансформации высокомолекулярных соединений, в том числе природных биополимеров.

Полученные результаты (таблица 10) свидетельствуют о том, что активность протеиназ в биомассе дрожжей изменяется по-разному.

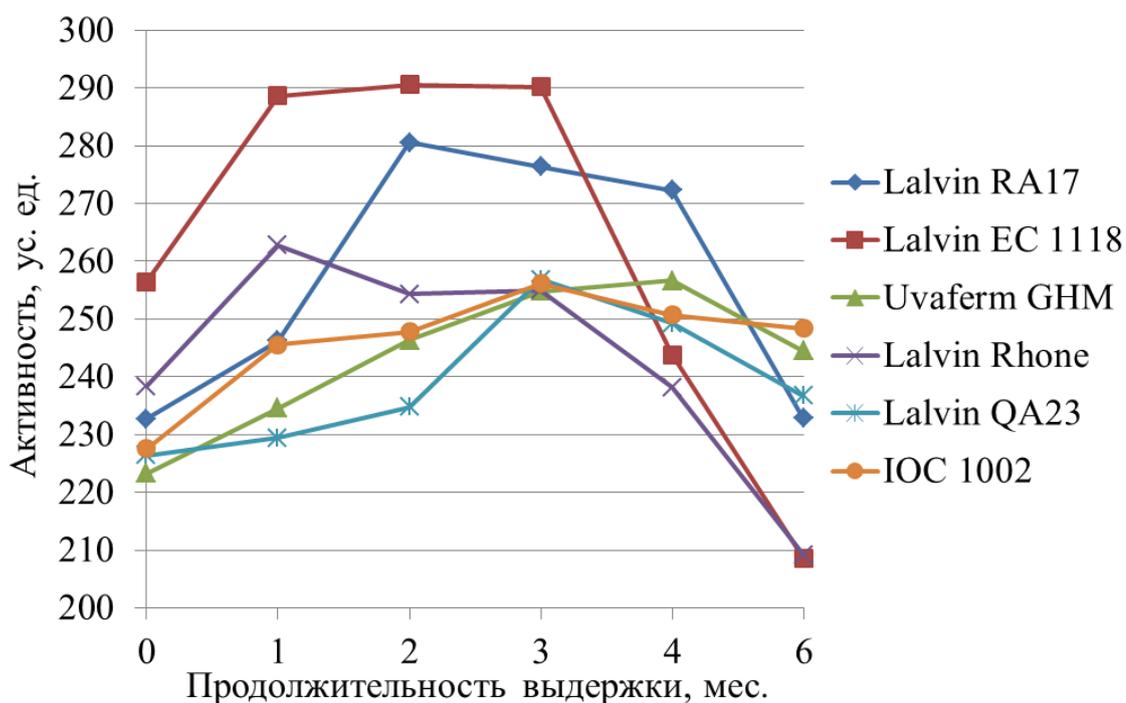
Можно выделить две расы дрожжей, в которых секреция протеиназы отличалась от других рас. Это Шампанская 7–10С (рисунок 20, а), в биомассе которой активность сохранялась на близком уровне в течение трех месяцев, и ИОС 1002 (рисунок 20, б), в которой активность фермента существенно не изменялась на протяжении всего периода наблюдения.

Таблица 10 – Секреция протеиназ в процессе автолиза различных рас дрожжей

Наименование расы дрожжей	Активность протеиназ, усл. ед, за время, месяцев					
	0	1	2	3	4	6
Разводки чистых культур дрожжей						
Кахури 7	218,6	232,4	206,8	188,2	144,8	118,5
Шампанская 7–10С	254,7	252,7	246,4	232,8	189,7	164,3
Раса 7	218,5	234,7	252,1	267,6	244,0	210,2
Ркацителли 6	212,7	222,7	244,2	211,4	188,6	178,1
Пино 14	248,5	267,3	277,5	245,4	210,7	187,4
Судак VI-5	272,0	312,8	318,6	288,5	260,5	244,5
Активные сухие дрожжи						
Lalvin RA17	232,7	246,2	280,6	276,4	272,3	232,8
Lalvin EC 1118	256,4	288,6	290,6	290,2	243,8	208,6
Uvaferm GHM	223,3	234,6	246,3	254,8	256,6	244,5
Lalvin Rhone	238,4	262,8	254,3	255,0	238,2	209,2
Lalvin QA23	226,4	229,4	234,8	256,8	249,2	236,7
ИОС 1002, контроль	227,6	245,6	247,8	256,2	250,7	248,4



а)



б)

Рисунок 20 – Секретия протеиназ в процессе автолиза различных рас дрожжей, где: разводки чистых культур дрожжей (а) и активные сухие дрожжи (б)

Для большинства исследованных рас была характерна следующая зависимость: активность протеиназы постепенно увеличивалась в течение двух-трех месяцев контакта дрожжей с виноматериалом, после чего наблюдалось ее снижение до значений, зависящих от расы дрожжей. Таким образом, при автолизе дрожжей резко снижается активность ферментов, принимающих участие в гидролизе высокомолекулярных соединений и других важных биосинтетических процессах. Вместе с тем у дрожжевых клеток всех исследованных рас не отмечается полной инактивации протеиназы.

Механизм процесса можно объяснить следующим образом. При спиртовом брожении в процессе метаболизма клетки во внутриклеточном пространстве накапливаются различные соединения, в том числе ферменты. По мере сбраживания сахаров количество угнетенных и мертвых клеток увеличивается, благодаря чему начинаются процессы литического распада (автолиз). В современной науке под автолизом понимают процесс расщепления отдельных компонентов клетки под действием различных ферментов, освободившихся в результате распада клеточных мембран. Гибель дрожжевой клетки может происходить мгновенно, например при нагревании, и медленно при длительном контакте дрожжей с виноматериалом. В первом случае строение клетки после смерти не меняется, при постепенном отмирании происходят изменения, называемые некробиозом. Механизм старения и отмирания клеток по-прежнему является спорным и далеко не ясным [98]. Автолиз происходит особенно интенсивно в тех случаях, когда жизнь клетки прекращается, внутриклеточные ферменты сохраняются, а клеточная мембрана становится более проницаемой для них.

Пектиназы катализируют гидролиз пектиновых веществ посредством реакций деполимеризации и деэтерификации. Пектиназа – собирательное название группы ферментов, основными из которых являются три:

– пектинэстераза, катализирующая разрыв сложных эфирных связей в пектине;

– полигалактуроноза, катализирующая разрыв галактуронидных связей в пектине и других полигалактуронидах;

– пектинлиаза, катализирующая разрыв галактуронидных связей путем трансилиминирования.

Пектинэстераза (пектин-пектингидролаза) катализирует разрыв сложноэфирных связей в пектине. В результате образуются метиловый спирт и пектиновая, а затем пектовая кислота:

Пектин + H<sub>2</sub>O → Метанол + Пектиновая кислота → Пектовая кислота.

Полигалактуроноза (поли-α-1,4-галактуронид-глюканогидролаза) катализирует гидролиз галактуронидных связей в пектинах и других полигалактуронидах с присоединением к остаткам галактозы по месту разрыва связи молекулы воды.

Пектатлиаза (поли-α-1,4-галактуронид-гликанолиаза) катализирует разрыв галактуронидных связей путем транс-элиминирования. При этом происходит удаление активированного водорода от пятого углеродного атома и образование продукта с двойной связью в кольце между четвертым и пятым атомами углерода.

Полученные экспериментальные данные (таблица 11) свидетельствуют о том, что суммарная активность пектиназ в дрожжевой клетке значительно меньше, чем активность протеиназ. Возможно, это вызвано меньшей концентрацией субстрата – пектиновых веществ – в сравнении с азотистыми высокомолекулярными веществами. Кроме того, низкая активность пектиназ может быть генетической особенностью винных дрожжей-сахаромицетов в сравнении с грибами других видов и родов [74].

Результаты исследований показали, что высокая активность пектиназ в дрожжевой биомассе сохраняется в течение двух месяцев (рисунок 21) контакта с виноматериалом, после чего наблюдается ее значительное уменьшение.

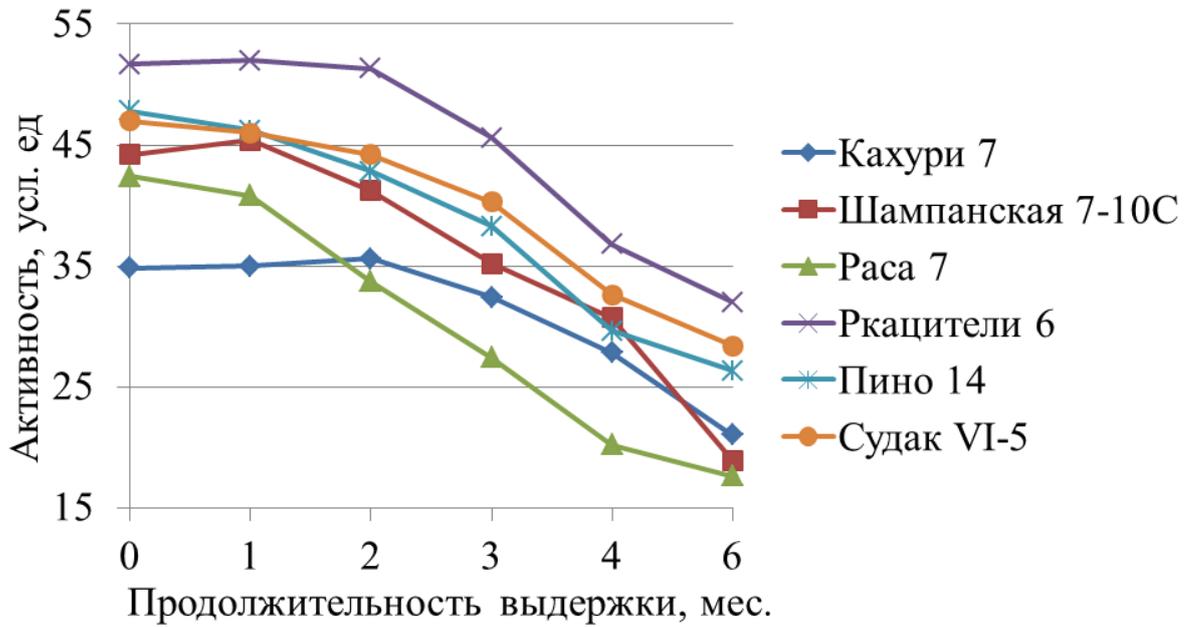
Однако в биомассе некоторых рас дрожжей – Ркацители 6, Lalvin EC 1118, Lalvin Rhone и IOC 1002 – активность пектиназы имеет достаточно высокое значение даже через 6 месяцев выдержки виноматериала на дрожжевой биомассе.

Таблица 11 – Изменение активности пектиназ в дрожжевой биомассе в процессе выдержки виноматериала

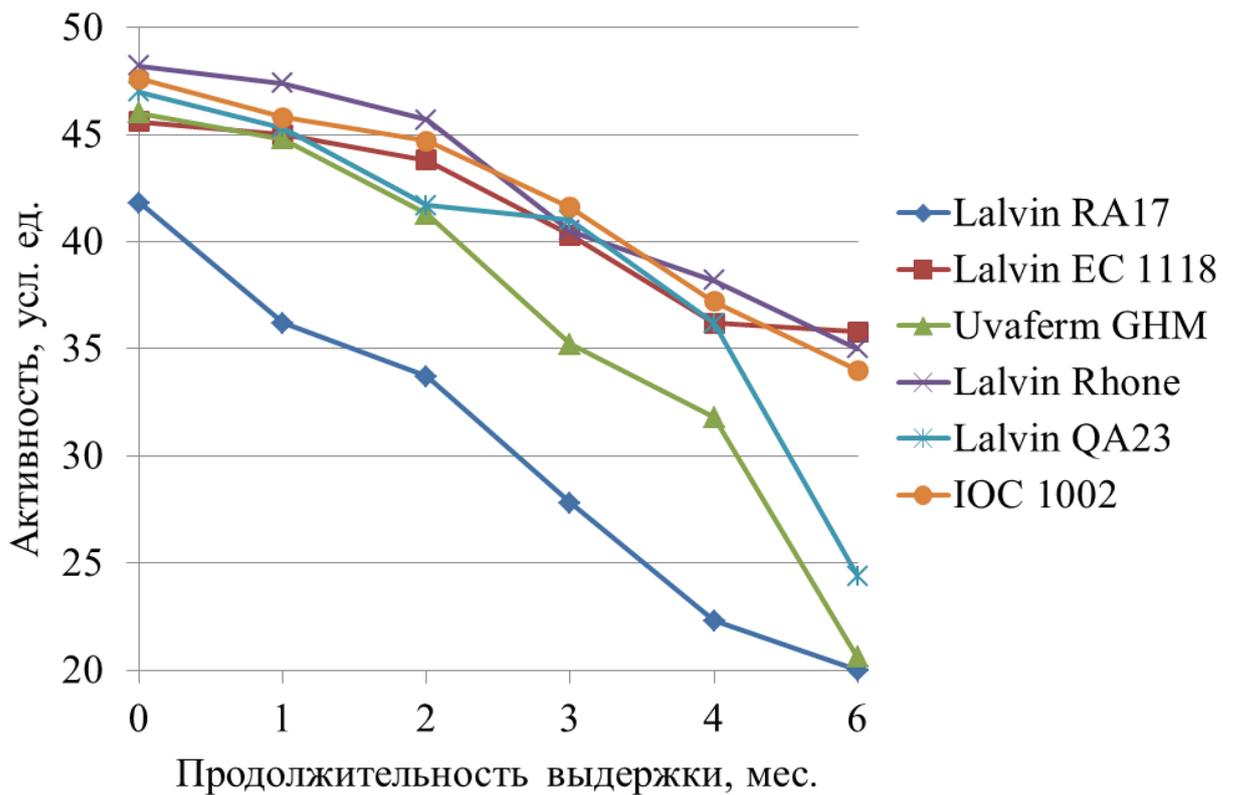
Наименование расы дрожжей	Активность пектиназ, усл. ед, за время, месяцев					
	0	1	2	3	4	6
Разводки чистых культур дрожжей						
Кахури 7	34,8	35,0	35,6	32,4	27,8	21,0
Шампанская 7–10С	44,2	45,4	41,2	35,2	30,7	18,9
Раса 7	42,4	40,8	33,7	27,4	20,2	17,6
Ркацители 6	51,7	52,0	51,3	45,6	36,8	32,0
Пино 14	47,8	46,2	42,8	38,3	29,6	26,3
Судак VI-5	47,0	46,0	44,2	40,3	32,6	28,4
Активные сухие дрожжи						
Lalvin RA17	41,8	36,2	33,7	27,8	22,3	20,0
Lalvin EC 1118	45,6	45,0	43,8	40,3	36,2	35,8
Uvaferm GHM	46,0	44,8	41,3	35,2	31,8	20,6
Lalvin Rhone	48,2	47,4	45,7	40,5	38,2	35,0
Lalvin QA23	47,0	45,3	41,7	41,0	36,2	24,4
ЮС 1002, контроль	47,6	45,8	44,7	41,6	37,2	34,0

Это позволяет считать, что процесс гидролиза полисахаридов, в том числе пектиновых веществ, протекает продолжительный период времени. Такие дрожжи следует рекомендовать для производства вин, технологии которых предусматривают длительный контакт виноматериала с дрожжами, например, игристых вин [99, 100].

Наибольшая активность пектиназ в начальный период лизиса клеток наблюдалась в биомассе дрожжей рас Ркацители 6, Пино 14, Судак VI-5 (рисунок 21, а), Lalvin Rhone, Lalvin QA23, ЮС 1002 (рисунок 21, б). Эти расы дрожжей могут быть использованы для снижения концентрации полисахаридов, в том числе пектиновых веществ, в технологии столовых виноматериалов.



а)



б)

Рисунок 21 – Изменение активности пектиназ в дрожжевой биомассе различных рас дрожжей в процессе выдержки виноматериала, где: разводки чистых культур дрожжей (а), активные сухие дрожжи (б)

### 3.1.5.2 Определение активности ферментов различных рас винных дрожжей

Активность протеиназ определяли в сброженном сусле – молодом виноматериале и в биомассе дрожжей.

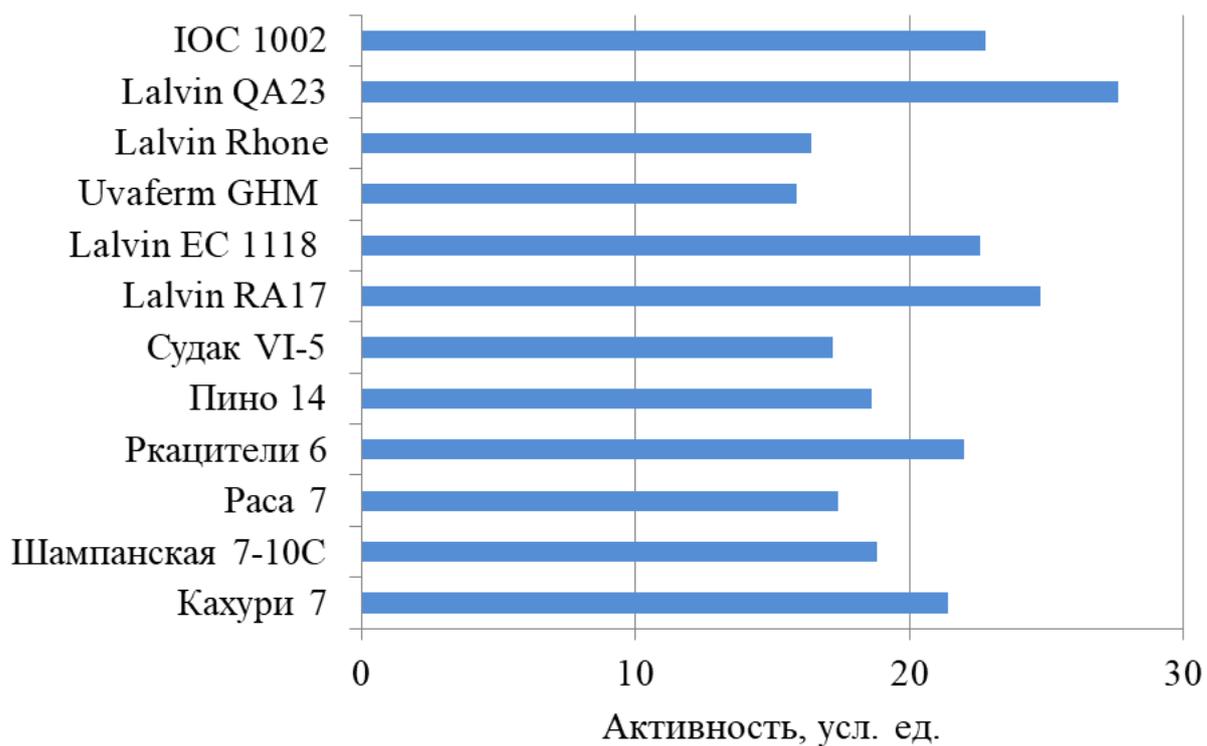
Анализ экспериментальных материалов [4], представленных в таблице 12, показал, что активность протеиназ в виноматериале и биомассе клеток варьирует в широких пределах. Это объясняется генетическими особенностями рас, их биосинтетическими функциями.

Таблица 12 – Активность протеиназ в зависимости от расы дрожжей

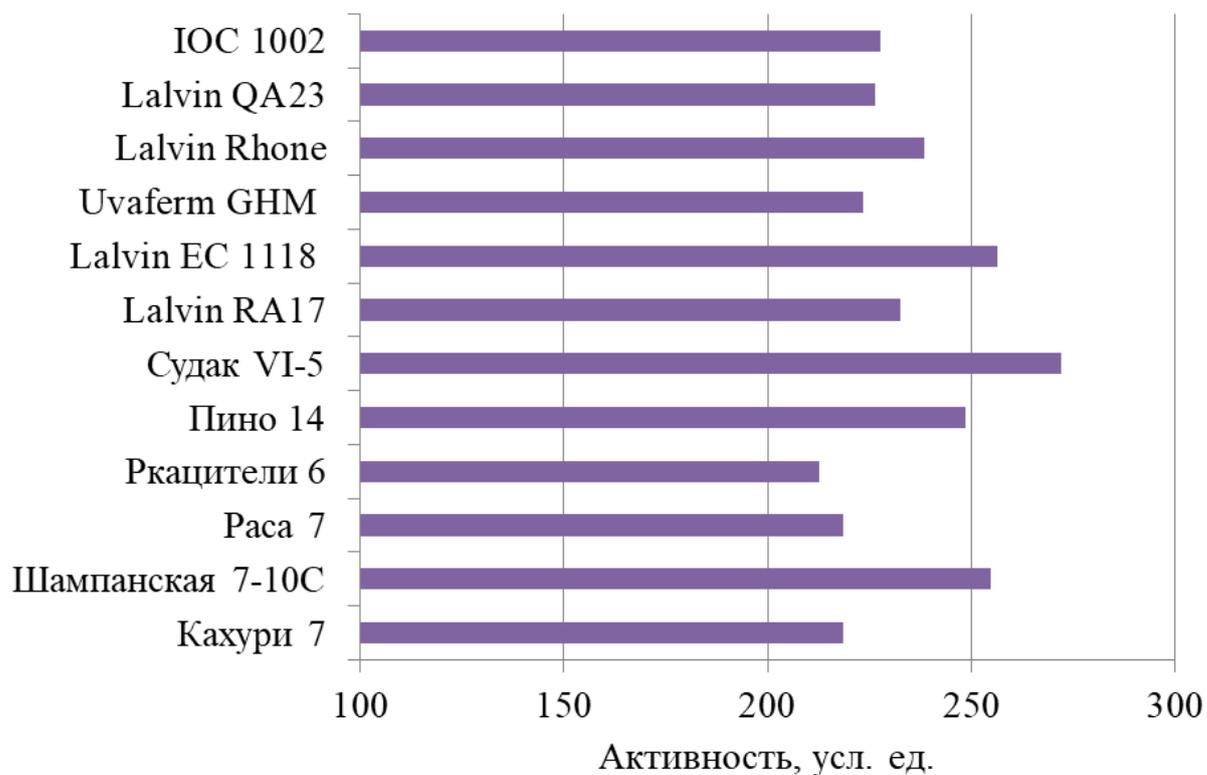
Наименование расы дрожжей	Активность протеиназ, усл. ед	
	в виноматериале	в биомассе дрожжей
Разводки чистых культур дрожжей		
Кахури 7	21,4	218,6
Шампанская 7–10С	18,8	254,7
Раса 7	17,4	218,5
Ркацители 6	22,0	212,7
Пино 14	18,6	248,5
Судак VI-5	17,2	272,0
Активные сухие дрожжи		
Lalvin RA17	24,8	232,7
Lalvin EC 1118	22,6	256,4
Uvaferm GHM	15,9	223,3
Lalvin Rhone	16,4	238,4
Lalvin QA23	27,6	226,4
ИОС 1002, контроль	22,8	227,6

Наибольшая активность протеиназ в виноматериале выявлена при сбраживании сусли расами Lalvin QA23, Lalvin RA17, ИОС 1002, Ркацители 6, Кахури 7 (рисунок 22, а).

Наибольшая активность протеиназ в биомассе дрожжевых клеток была характерна для рас Судак VI-5, Lalvin EC 1118, Шампанская 7–10С, Пино 14 (рисунок 22, б).



а)



б)

Рисунок 22 – Активность протеиназ в зависимости от расы дрожжей в виноматериале (а) и в биомассе дрожжей (б)

Сравнительный анализ представленных материалов позволяет сделать следующие выводы:

– корреляция между активностью протеиназ в виноматериале и дрожжевой биомассе отсутствует, что свидетельствует о различной биосинтетической функции исследуемых рас дрожжей;

– дрожжевые клетки обладают различной скоростью автолитических процессов, благодаря чему концентрация протеиназ в виноматериале существенно различается;

– биомасса клеток активных сухих дрожжей обладает большим запасом протеиназ в сравнении с разводками дрожжей отечественных рас [4, 80].

Исследованиями, приведенными в разделе 3.1.5.1, показано, что дрожжи сохраняют высокую активность пектиназ в течение двух месяцев, но продолжают гидролитические процессы в течение всего периода наблюдения (6 месяцев). В связи с этим целью следующих экспериментов было установление величины активности пектиназы в виноматериале. Для этого были отобраны образцы виноматериала, находившиеся в контакте с виноматериалом 2 и 6 месяцев. Дополнительно определяли концентрацию суммы полисахаридов в опытных образцах виноматериалов, чтобы подтвердить или опровергнуть активность пектиназ.

Полученные результаты (таблица 13) показали, что секреция пектиназ из дрожжевой клетки в виноматериал зависит от продолжительности контакта виноматериала и дрожжей. В первые два месяца активность пектиназ в виноматериале имела достаточно высокие значения, особенно у рас Ркацители 6, Пино 14, Шампанская 7–10С. При этом следует отметить, что в первые два месяца активность пектиназ в виноматериалах, приготовленных с использованием активных сухих дрожжей, была меньше, чем при использовании отечественных рас.

Таблица 13 – Активность пектиназ в виноматериале в зависимости от расы дрожжей

Наименование расы дрожжей	Активность пектиназ, усл.ед., за время выдержки, мес.		Массовая концентрация суммы полисахаридов, мг/дм <sup>3</sup> , за время выдержки, мес.	
	2	6	2	6
Разводки чистых культур дрожжей				
Кахури 7	7,7	6,4	850	720
Шампанская 7–10С	11,4	7,7	740	650
Раса 7	10,8	5,6	780	710
Ркацители 6	15,2	6,3	560	520
Пино 14	12,8	6,3	660	600
Судак VI-5	8,8	7,3	770	650
Активные сухие дрожжи				
Lalvin RA17	8,3	6,8	810	640
Lalvin EC 1118	10,2	8,4	750	600
Uvaferm GHM	8,8	7,0	730	630
Lalvin Rhone	11,1	8,7	710	510
Lalvin QA23	10,0	7,6	750	660
ЮС 1002, контроль	10,3	8,2	740	600

Однако через 6 месяцев наблюдений величина активности выравнивалась и даже в виноматериалах, произведенных с применением Lalvin Rhone ЮС 1002, Lalvin EC 1118 имела более высокие величины (рисунок 23). Это позволяет считать, что секреция пектиназ активными сухими дрожжами протекала примерно равномерно в течение всего периода наблюдения.

Между тем, концентрация полисахаридов в целом была несколько меньше при использовании активных сухих дрожжей, особенно у расы Lalvin Rhone (рисунок 24).

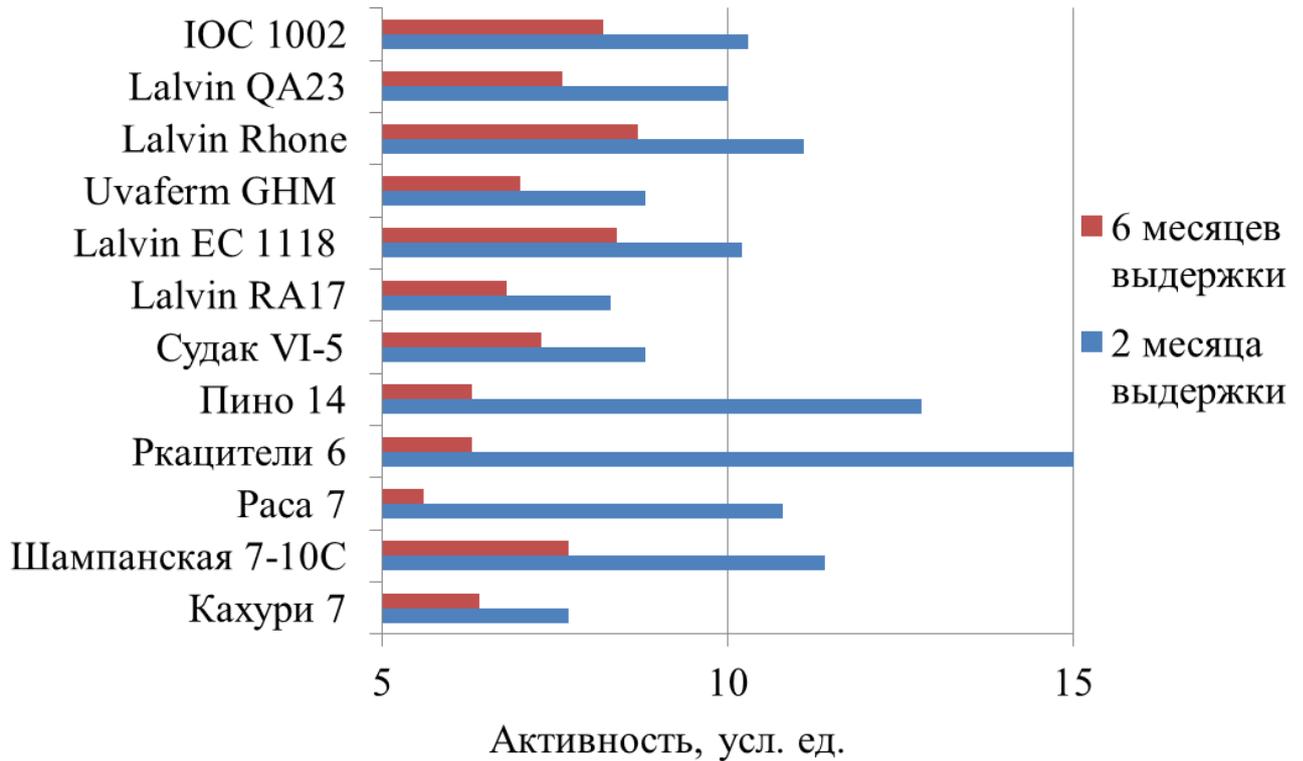


Рисунок 23 – Активность пектиназ в виноматериале в зависимости от расы дрожжей

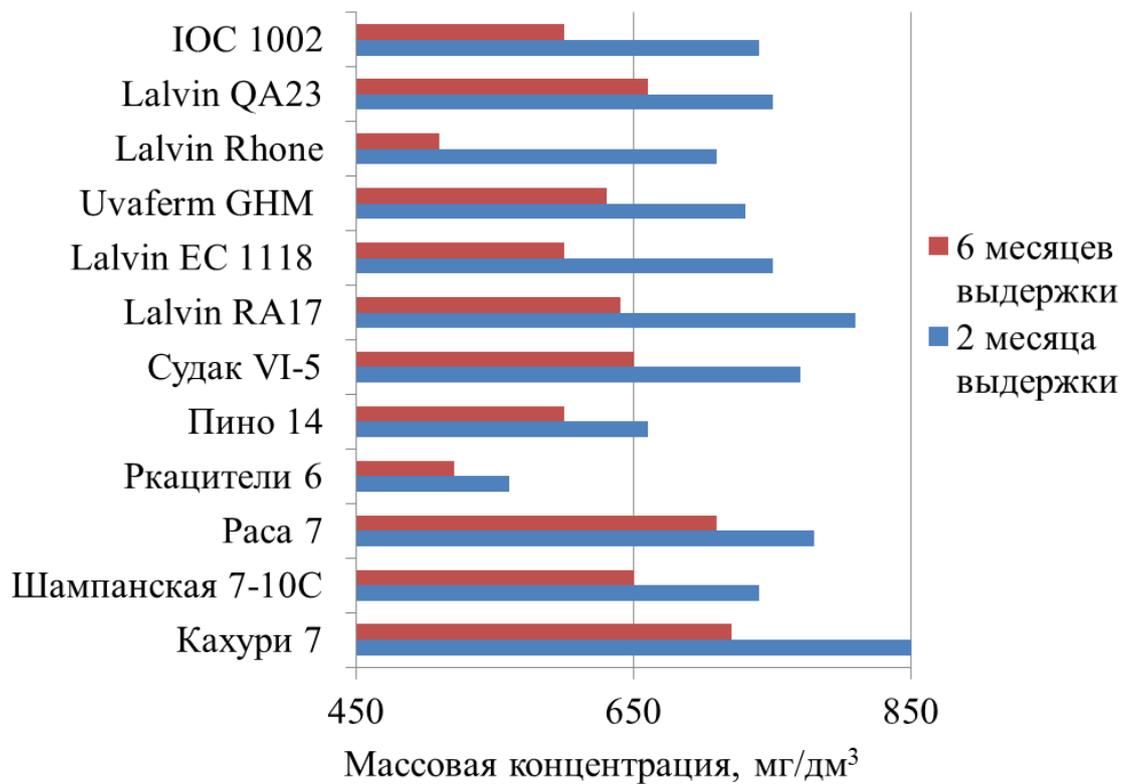


Рисунок 24 – Изменение суммы полисахаридов в зависимости от расы дрожжей и времени выдержки

### 3.1.5.3 Влияние ферментных систем винных дрожжей на концентрацию биополимеров в виноматериале

Гидролитические процессы, протекающие под действием протеиназ клеток винных дрожжей приводят к разрушению высокомолекулярных коллоидов виноматериала [101]. В связи с этим научный интерес представляют исследования, направленные на установление влияния расы дрожжей на состав высокомолекулярных соединений (далее ВМС) виноматериалов. Был проведен анализ концентрации ВМС виноматериалов через два месяца контакта виноматериала с биомассой дрожжей, когда активность протеиназ у большинства рас имела наибольшее значение.

Анализ полученных экспериментальных данных, представленных в таблице 14, показал, что высокая гидролитическая активность протеиназ различных рас дрожжей коррелирует, в первую очередь, с концентрациями белка и аминного азота [102].

Таблица 14 – Состав высокомолекулярных соединений в белом сухом виноматериале, приготовленном с использованием различных рас дрожжей

Наименование расы дрожжей	Сумма коллоидов, мг/дм <sup>3</sup>	Массовая концентрация		
		полисахаридов, мг/дм <sup>3</sup>	аминного азота, мг/дм <sup>3</sup>	белка, мг/дм <sup>3</sup>
Разводки чистых культур дрожжей				
Кахури 7	980	520	126,2	24,6
Шампанская 7–10С	660	480	154,6	8,8
Раса 7	860	460	152,0	8,4
Ркацители 6	740	340	136,2	18,8
Пино 14	620	420	168,5	6,2
Судак VI-5	580	400	188,7	4,4
Активные сухие дрожжи				
Lalvin RA17	640	460	196,2	4,6
Lalvin EC 1118	560	380	196,6	3,6
Uvaferm GH	610	400	182,4	4,8
Lalvin Rhone	630	360	182,8	4,2
Lalvin QA23	660	440	178,3	4,6
ИОС 1002, контроль	540	400	189,6	3,4

Так, наибольший гидролиз белка наблюдался в вариантах виноматериалов, приготовленных с применением рас дрожжей Судак VI-5, Пино 14 и всех активных сухих дрожжей. При этом в вариантах с меньшей концентрацией белка и суммы коллоидов – биополимеров отмечено увеличение количества аминного азота аминокислот. Это позволяет считать, что при использовании перечисленных рас дрожжей необходимо проводить выдержку виноматериалов на дрожжевой биомассе не более двух-трех месяцев. С увеличением продолжительности контакта возможно обогащение виноматериалов биополимерами, так как активность протеиназ снижается.

Таким образом, при необходимости гидролиза ВМС виноматериалов целесообразно использование их выдержки в течение двух-трех месяцев на биомассе рас дрожжей Судак VI-5, Пино 14 и всех исследованных активных сухих дрожжей.

Анализ концентрации полисахаридов, представленный в таблице 14, показывает, что их концентрация в виноматериале варьируется в достаточно широком пределе – от 340 до 520 мг/дм<sup>3</sup>. Это говорит о том, что в виноматериалах присутствуют пектолитические ферменты – пектиназы, но их активность различается в зависимости от расы дрожжей.

Дальнейшие исследования были проведены с применением виноматериала из сорта винограда Совиньон, который получали по следующей схеме: дробление – гребнеотделение – прессование мезги с отделением сусла из расчета 60 дал с 1 т винограда – брожение сусла на исследуемых расах дрожжей – дображивание и выдержка виноматериала на дрожжевой биомассе 4,5 месяца с перемешиванием и однократной открытой переливкой – отделение виноматериала от дрожжей, после чего проводили анализ концентрации и состава комплекса биополимеров [4, 80].

В качестве контроля использовали виноматериал из сорта винограда Совиньон, полученный по традиционной технологии, предусматривающей дробление – гребнеотделение – прессование мезги с отделением сусла из расчета 60 дал с 1 т винограда – осветление сусла с применением бентонита – брожение

сусла с применением расы дрожжей Оеноферм – дображивание до остаточного сахара не более 4 г/дм<sup>3</sup> – снятие с дрожжей – хранение до технологических обработок.

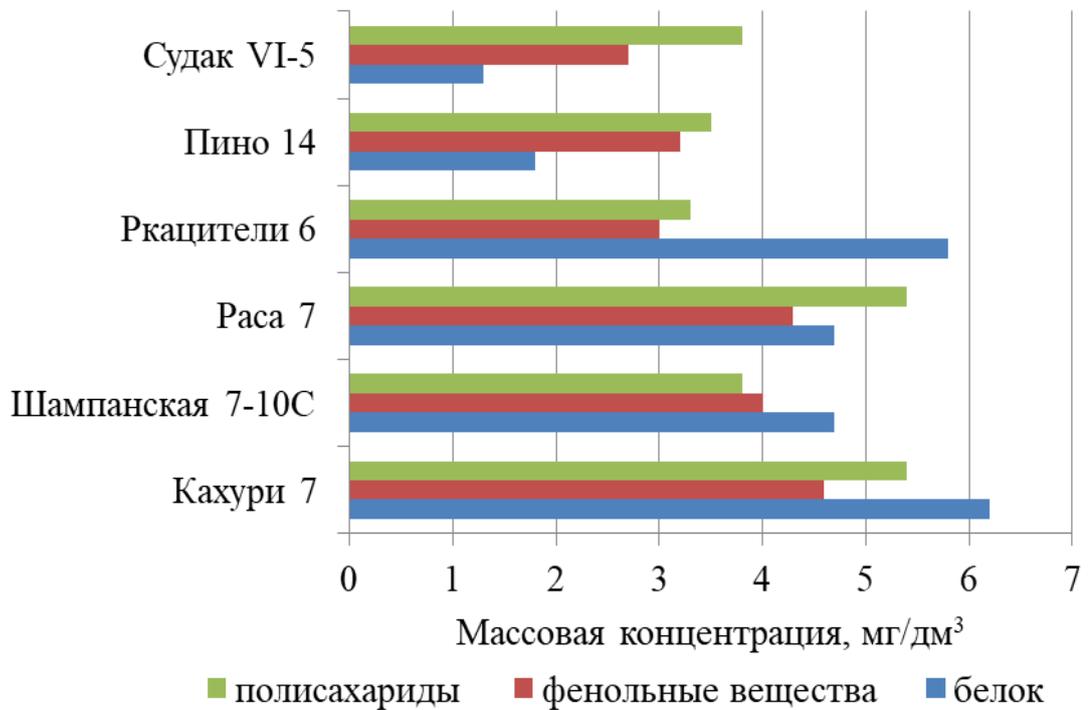
Полученные результаты (таблица 15) свидетельствуют о том, что устойчивость вина к коллоидным помутнениям определяется не столько концентрацией остаточного белка в виноматериале, сколько его количеством в комплексе биополимеров и суммарной концентрацией самих биополимеров.

Таблица 15 – Влияние рас винных дрожжей на комплекс биополимеров белого столового виноградного вина

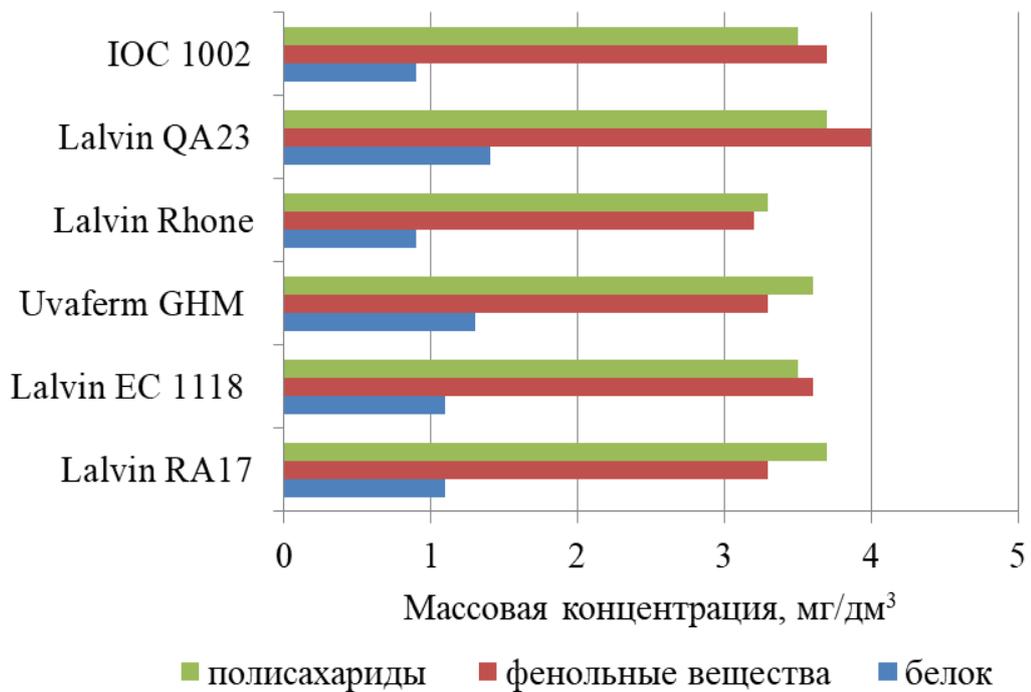
Наименование виноматериала	Массовая концентрация биополимеров, мг/дм <sup>3</sup>				Продолжи- тельность стабильности вина, месяцев
	сумма	белок	фенольные вещества	полисахариды	
Столовое белое Совиньон, контроль	17,5	6,6	4,2	6,7	
Разводки чистых культур дрожжей					
Кахури 7	16,2	6,2	4,6	5,4	3
Шампанская 7–10С	12,5	4,7	4,0	3,8	6
Раса 7	14,4	4,7	4,3	5,4	4
Ркацители 6	12,1	5,8	3,0	3,3	4
Пино 14	8,5	1,8	3,2	3,5	8
Судак VI-5	7,8	1,3	2,7	3,8	8
Активные сухие дрожжи					
Lalvin RA17	8,1	1,1	3,3	3,7	7
Lalvin EC 1118	8,2	1,1	3,6	3,5	8
Uvaferm GHM	8,2	1,3	3,3	3,6	7
Lalvin Rhone	7,4	0,9	3,2	3,3	10
Lalvin QA23	9,1	1,4	4,0	3,7	8
ЮС 1002, контроль	8,1	0,9	3,7	3,5	10

Следует отметить, что концентрация фенольных соединений в комплексе биополимеров изменялась не так существенно, как количество белка и полисахаридов, за исключением виноматериала, произведенного с применением

расы Судак VI-5, в котором количество фенольных соединений в комплексе биополимеров было наименьшим (рисунок 25).



а)



б)

Рисунок 25 – Влияние разводки чистых культур дрожжей (а) и активных сухих дрожжей (б) на биополимеры белого столового вина

Таким образом, на основании результатов анализа всех приведенных исследований установлены следующие закономерности:

– винные дрожжи, имеющие наибольшую активность ферментных систем – протеиназ и пектиназ – обеспечивают производство виноматериалов с меньшими концентрациями высокомолекулярных веществ;

– винные дрожжи, имеющие наибольшую активность ферментных систем – протеиназ и пектиназ – позволяют снизить количество биополимеров в виноматериале;

– чем выше активность ферментных систем – протеиназ и пектиназ – в винных дрожжах, тем больше их секреция в виноматериал и выше их активность в виноматериале;

– чем выше активность ферментных систем – протеиназ и пектиназ – в винных дрожжах и больше их секреция в виноматериал, тем продолжительнее устойчивость вина к коллоидным помутнениям.

### **3.1.6 Изменение концентрации белка при батонаже в технологии белых столовых вин**

В экспериментах использовали белые столовые виноматериалы из сорта винограда Совиньон, полученные путем сбраживания виноградного сусла в анаэробных условиях при температуре 16-20 °С с применением АСД вида *Saccharomyces cerevisiae* рас Oenoferm (образец 1), Proelif (образец 2) и Zymaflore X5 (образец 3). В контрольном образце (образец 4) брожение проводили спонтанной микрофлорой виноградной ягоды. По окончании брожения виноматериал выдерживали в анаэробных условиях при температуре 16-18 °С с периодическим перемешиванием (батонаж). На основании предварительных исследований [88, 103] виноматериал и биомассу дрожжей перемешивали один раз в месяц, после чего проводили отбор проб для определения концентрации

белка. Эксперименты выполнялись в трех повторностях при уровне вероятности не менее 0,93.

Полученные результаты (таблица 16) показали, что концентрация клеточного белка и его секреция в среду варьирует в широких пределах и в значительной степени определяется физиологическими особенностями расы дрожжей.

Таблица 16 – Изменение концентрации белка, мг/дм<sup>3</sup>, в процессе батожа

Продолжи- тельность батожа, сутки	Концентрация белка, мг/дм <sup>3</sup>							
	в виноматериале				в биомассе дрожжей			
	Номер образца							
	1	2	3	4	1	2	3	4
0	28,4	33,7	24,7	32,4	158,3	212,5	207,3	224,6
15	33,2	29,7	23,8	34,2	155,7	208,4	203,2	224,0
30	35,4	26,4	21,6	36,8	147,3	203,8	198,7	218,4
40	29,8	22,8	18,6	31,7	140,3	196,4	193,4	208,6
62	23,2	18,3	17,8	26,2	135,7	193,2	190,5	201,8
78	20,4	19,7	17,0	23,5	126,3	190,5	188,3	194,3
104	16,4	21,4	16,2	20,3	118,6	190,0	184,2	191,2

Сопоставляя концентрации белка в клетке и вине, можно заключить, что лишь незначительная его часть переходит в среду – от 22 мг/дм<sup>3</sup> у расы Proelif до 40 мг/дм<sup>3</sup> у расы Oenoferm. Причина слабой экскреции белка у дрожжевых клеток по сравнению, например, с бактериями [104, 105], связана, вероятно, не только со сложной структурой и химической организацией приграничных слоёв дрожжевой клетки, низкой проницаемостью мембраны, но и с их физиологическими особенностями. В частности, в исследованиях [106, 107] отмечается различие между автолизом или ферментативным разложением макромолекул азотистых соединений внутренними ферментами угнетенных и отмирающих клеток и простым выделением или растворением веществ, входящих в состав клетки, в то время, когда протекает батожа. При этом именно генетическими особенностями

рас дрожжей объясняются различия в количестве и молекулярных массах белков, пептидов, амидов, выделяемых дрожжевыми клетками в виноматериал.

Нельзя не учитывать и тот факт, что дрожжи в зависимости от расы обладают протеиназной активностью [108, 109]. Под действием ферментов дрожжей, переходящих из клетки в среду, наблюдается трансформация коллоидов вина, в том числе белка, до низкомолекулярных соединений, например, аминокислот. Наибольшее количество белка в виноматериал секретировали дрожжи расы *Oenoferm*. Полученные данные позволяют считать, что эта же раса дрожжей обладает и наиболее высокой активностью протеиназ, т.к. трансформация белка протекала более интенсивно в сравнении с другими расами.

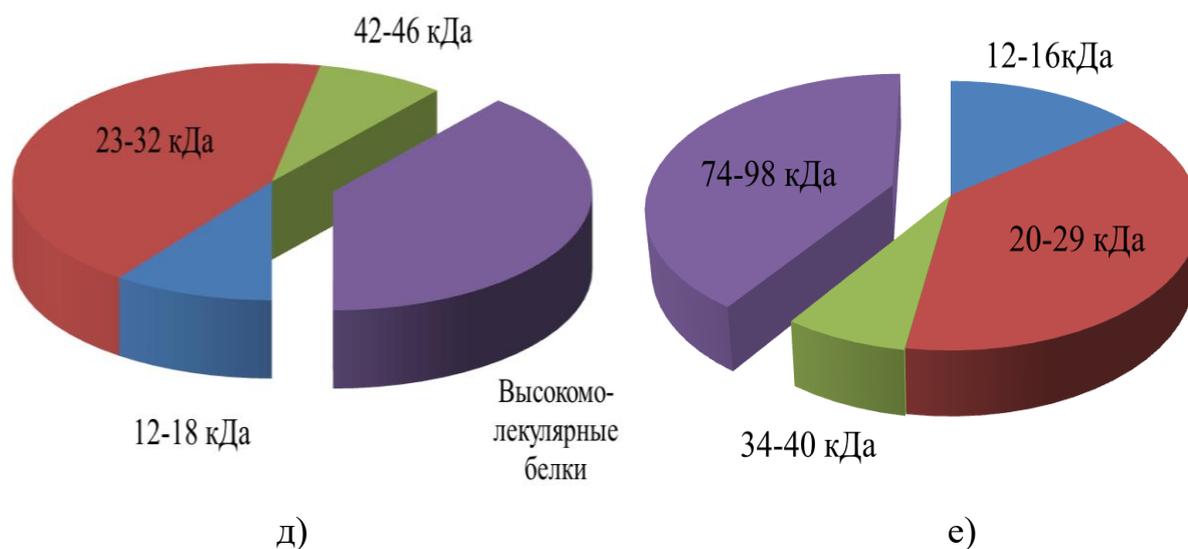
Динамика изменения концентрации белка в виноматериале различалась в зависимости от расы дрожжей. При использовании расы *Oenoferm* и спонтанной микрофлоры в первые 30 суток контакта наблюдалось небольшое увеличение концентрации белка, впоследствии его количество постоянно снижалось. Первый этап характеризовался медленно протекающим процессом трансформации белка: в этот период происходит «настройка» ферментных систем клетки, их секреция в среду. Второй фазе свойственно усиление процессов гидролиза, вследствие чего концентрация белка заметно уменьшается [80].

Для рас *Proelif* и *Zymaflore X5* было характерно медленное, но постоянное уменьшение концентрации белка в вине в течение всего периода наблюдения. Это свидетельствует о высокой скорости «настройки» ферментных систем клетки, их секреция в среду и более высокой активности протеиназ в сравнении с другими расами дрожжей.

Большой интерес представляет величина молекулярной массы белков, продуцируемых винными дрожжами в виноматериал. Сравнительный анализ электрофоретических профилей белковых фракций виноматериалов по окончании спиртового брожения показал существенное различие в интенсивности и количестве полос, соответствующих протеинам определенной молекулярной массы, в зависимости от расы дрожжей.



## раса дрожжей Zymaflore X5



## Спонтанная микрофлора

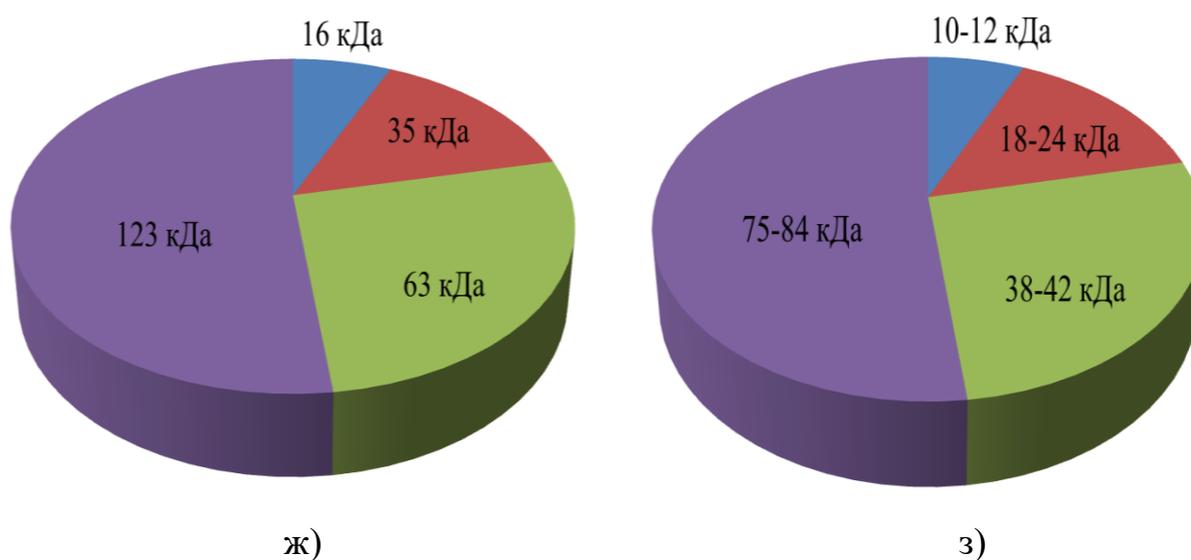


Рисунок 26 – Качественный состав белковых фракций виноматериалов

Для виноматериалов, полученных с использованием препарата АСД Oenoferm, характерно наличие низкомолекулярных фракций белка (от 18 до 27 кДа), которые составляют 87 % (рисунок 26, а).

При исследовании протеинов виноматериалов, полученных с использованием препарата АСД Proelif установлена существенная гетерогенность их молекулярных масс: выявлены белки с молекулярной массой 23-25 кДа – 30-35

%, 44-46 кДа – 22-24 %, остальное – высокомолекулярные белки (свыше 86 кДа) (рисунок 26, в).

Электрофоретические исследования белковых фракций виноматериала, полученные при использовании расы дрожжей *Zymaflore X5* показали варьирование молекулярной массы протеинов в широком диапазоне: 12-18 кДа – 10 %; от 23 до 32 кДа – 42-44 %; 42-46 кДа – 8 %, остальное – высокомолекулярные белки (рисунок 26, д).

Наибольшая гетерогенность белков по молекулярным массам отмечена при сбраживании сусле спонтанной микрофлорой. Выявлены протеины с молекулярными массами 8, 16, 23, 35, 44, 63, 87, 123 кДа (рисунок 26, ж). Это может быть связано с наличием различных семейств, видов и родов микроорганизмов, участвующих в процессах массообмена между клеткой и виноматериалом, каждый из которых характеризуется различными биосинтетическими функциями и собственным набором белков.

Исследования, проведенные по окончании батонача (через 104 суток), показали, что в процессе длительного контакта дрожжей с виноматериалом, концентрация белка в виноматериале уменьшалась благодаря деятельности протеиназ, секретируемых дрожжами [14].

Изменились электрофоретические профили белков виноматериалов, уменьшилась гетерогенность их молекулярных масс:

- при использовании расы дрожжей *Oenoferm* в виноматериале выявлены низкомолекулярные белки – от 18 до 31 кДа – 94 % (рисунок 26, б);
- молекулярные массы белков при использовании расы *Proelif* варьировали в диапазонах 12-16 кДа – 19-23 %; 21-27 кДа – 14-18 %; 35-41 кДа – 14-16 %; остальное – 50-78 кДа; белки с более высокой молекулярной массой не выявлены (рисунок 26, г);
- молекулярные массы белков виноматериала, произведенного с применением расы *Zymaflore X5*, не претерпели существенного изменения – 12-16

кДа – 12-17 %; от 20 до 29 кДа – 34-42 %; 34-40 кДа – 6-8 %, остальное – высокомолекулярные белки (74-98 кДа) (рисунок 26, е);

- при применении спонтанной микрофлоры выявлены белки с молекулярной массой 10-12, 18-24, 38-42, 75-84 кДа (рисунок 26, з).

Известно [110, 111], что величина молекулярной массы белка оказывает существенное влияние на их сорбцию при технологических обработках виноматериалов, в том числе при низких температурах. При этом по различным данным лучше сорбируются белки средних молекулярных масс – от 26 до 63 кДа. Остальные белки остаются в вине и могут стать причиной коллоидных помутнений, в том числе, обратимых. Количество таких белков после батонажа заметно уменьшается, что позволяет прогнозировать улучшение розливостойкости вина.

Таким образом, представленные материалы исследований свидетельствуют о существенном влиянии расы дрожжей на концентрацию белка в белых столовых винах и изменение молекулярных масс белка.

### **3.2 Динамика изменения дегустационной оценки**

Дрожжи относятся к гетеротрофным культурам, потребляющим в процессе своего развития органические вещества среды. При контакте виноматериала с дрожжами в процессе выдержки клетками чаще всего потребляются азотистые вещества. Процесс батонажа ведется в анаэробных условиях с периодическим перемешиванием среды и доступом небольшого количества воздуха. Однако многие особенности и механизмы процесса по-прежнему остаются неизученными. Из общения со специалистами винодельческих предприятий удалось выяснить, что при идентичности технологий переработки винограда и брожения суслу батонаж, т.е. последующий контакт виноматериала с дрожжевым осадком для извлечения ценных компонентов клетки, проводится по-разному. Различается продолжительность процесса (от одного до шести месяцев),

периодичность перемешивания (от ежедневного до одного-двух раз в месяц), температура выдержки (от 10-12 до 22-23 °С), наличие или отсутствие аэрации при перемешивании и т.п. В связи с этим качество вин также изменяется, особенно их окраска. Так, при органолептической оценке 14 образцов виноматериала сухого столового белого Шардоне и 12 образцов столового белого Совиньон было отмечено существенное различие в окраске. Она варьировала: для Шардоне – от телесной с зеленоватым оттенком до соломенно-золотистой; для Совиньона – от соломенной до соломенной с розовинкой и золотистой. Возможно, помимо других причин, это можно объяснить режимами проведения батонажа.

Виноградное осветленное сусло из сорта винограда Совиньон сульфитировали до общего содержания диоксида серы 70 мг/дм<sup>3</sup> и сбраживали с применением АСД вида *Saccharomyces cerevisiae* Killer (Bayanus) расы ЮС 18-2007 (Франция). По окончании брожения виноматериал перемешивали с биомассой дрожжей и делили на четыре образца: 1 – перемешивали один раз в неделю; 2 – перемешивали один раз в месяц; 3 – перемешивали один раз в два месяца; 4 – не перемешивали (контроль). Продолжительность батонажа составляла шесть месяцев.

В процессе батонажа с периодичностью один раз в месяц проводили органолептическую оценку экспериментальных образцов по 100-бальной системе (таблица 17, рисунок 27).

Анализ экспериментального материала показал, что в процессе выдержки контрольного образца дегустационная оценка виноматериала в течение трех месяцев была на одном и том же уровне, отмечалось наличие дрожжевого тона; окраска виноматериала практически не изменялась и оставалась соломенной. На пятом месяце контакта виноматериала с биомассой дрожжей отмечено улучшение вкуса и аромата виноматериала – появились тона зрелости и мягкость во вкусе, исчез дрожжевой тон. Однако через шесть месяцев во вкусе появилась горчинка, что вызвало снижение величины дегустационной оценки.

Таблица 17 – Изменение органолептической оценки экспериментальных образцов в процессе батонажа

Продолжительность батонажа, мес.	Дегустационная оценка образца, балл			
	1	2	3	4 (контроль)
0 (исходный виноматериал)	75	75	75	75
1	78	75	73	75
2	84	78	72	73
3	80	82	76	73
4	80	86	78	77
5	77	86	82	80
6	75	88	84	76

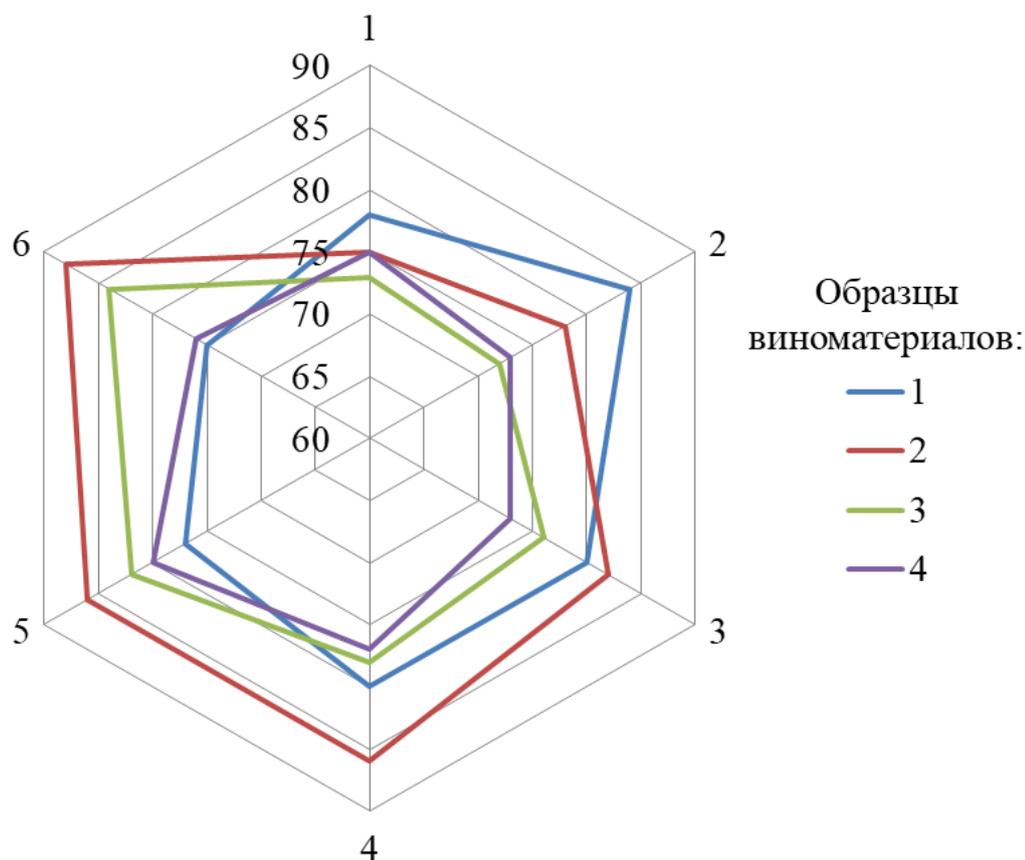


Рисунок 27 – Динамика изменения органолептической оценки, где:

1 – перемешивание один раз в неделю;

2 – перемешивание один раз в месяц;

3 – перемешивание один раз в два месяца; 4 – без перемешивания (контроль)

Частое перемешивание (образец 1) привело к улучшению органолептической характеристики вина уже через два месяца контакта: в виноматериале появилась утонченность вкуса, яркий сортовой аромат, окраска вина была телесно-соломенной. Однако при дальнейшем контакте с дрожжевой биомассой аромат виноматериала изменился, в окраске появились сначала легкие соломенно-золотистые, а через четыре месяца – золотистые тона. Это позволяет считать, что частое перемешивание виноматериала с дрожжевой биомассой идентично активации окислительных реакций.

Лучшие результаты были получены в образце 2, в котором перемешивание виноматериала и дрожжевой биомассы проводили один раз в месяц: виноматериал характеризовался сортовым ароматом, имел полный, мягкий, гармоничный вкус. Следует отметить, что органолептическая характеристика этого виноматериала при дальнейшем контакте с биомассой дрожжей улучшалась.

В образце 3 (перемешивание один раз в два месяца) на втором месяце контакта с дрожжевой биомассой отмечено появление сероводородного и даже диметилсульфидного тона. Ориентируясь на данные [87, 112] их образование мы связываем с переходом серосодержащих аминокислот, особенно S-метионина и цистина, из дрожжевой клетки в виноматериал. По существующим представлениям образующийся при полном восстановлении сульфатов свободный сероводород, равно как и тиоловые соединения, включая диметилсульфид, реагируют с *o*-ацетилсерином с образованием цистеина [113]. Однако эта реакция обратима, в анаэробных условиях возможно обратное превращение серосодержащих аминокислот в диметилсульфид и сероводород. В момент проведения батонажа виноматериал был проветрен и снова направлен на выдержку. Постепенно его органолептические достоинства улучшались, в аромате появились характерные сорту цветочно-фруктовые оттенки [114, 115, 116].

### 3.3 Изменение структуры клеток винных дрожжей при батонаже

Цитологические исследования показали, что автолиз дрожжевых клеток в вине протекает медленно и имеет своеобразную направленность [62]. Этому способствуют относительно низкое значение рН и присутствие в вине разнообразных химических веществ: спирта, кислот и др. В случае высокого рН процесс разрушения дрожжей идет глубоко, с разрывом клеточных структур [117, 118].

За время выдержки дрожжей в вине происходит увеличение зернистости цитоплазмы и наступает ее коагуляция, уменьшаются размеры дрожжевых клеток.

Исследования с помощью поляризационно-интерференционной микроскопии показали, что в процессе выдержки дрожжей в вине при 20 °С происходит постепенное нарушение целостности цитоплазмы и клеточных органелл, клетка деформируется, накапливаются фосфолипидные образования [119, 120].

До выдержки клетки имеют округлую форму, равномерно шероховатую поверхность, хорошо выраженную структуру, характерную для жизнедеятельных клеток, ровную клеточную стенку и гомогенную цитоплазму с органеллами (рисунок 28).

На 30-е сутки (рисунок 29) заметно увеличение толщины оболочки и группировка содержимого клетки в ее центре, только в отдельных ее клетках сохранилась исходная структура. Клеточная стенка утолщается, контуры ее становятся размытыми, появляется периплазматическое пространство, обнаруживаются темные вкрапления хроматина, который образуется вследствие разрушения нуклеопротеидных комплексов клетки [121, 122].

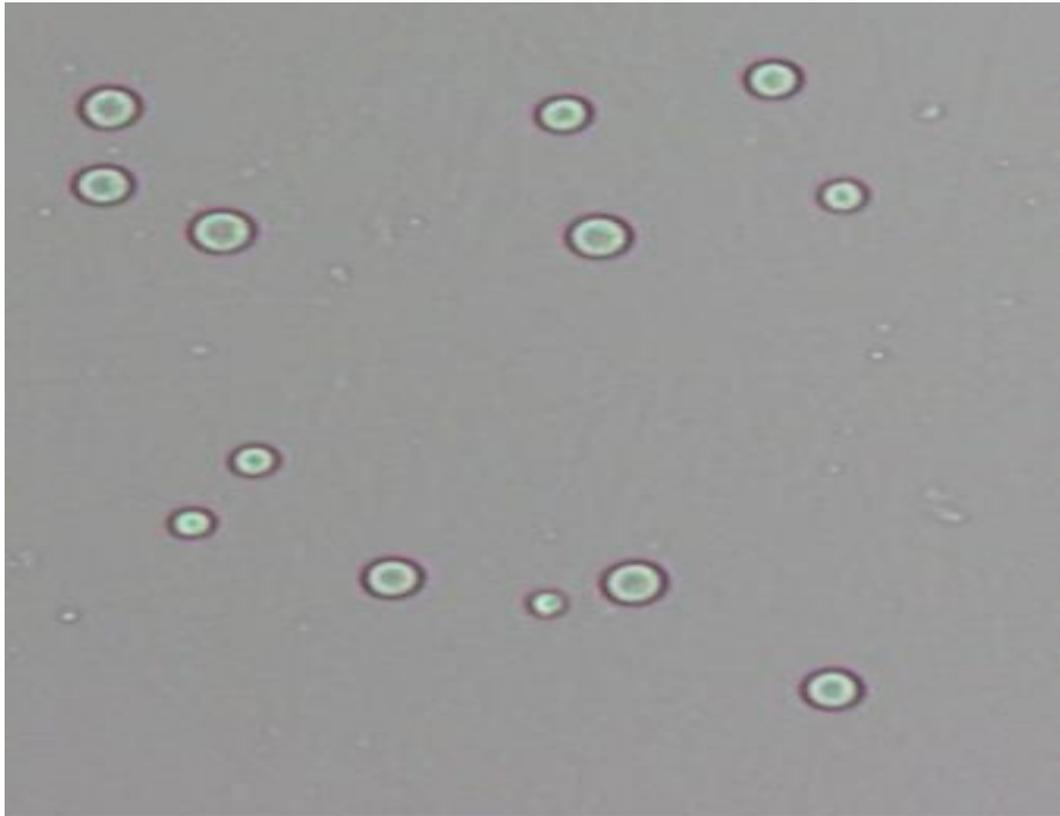


Рисунок 28 – Культура дрожжей до батонажа

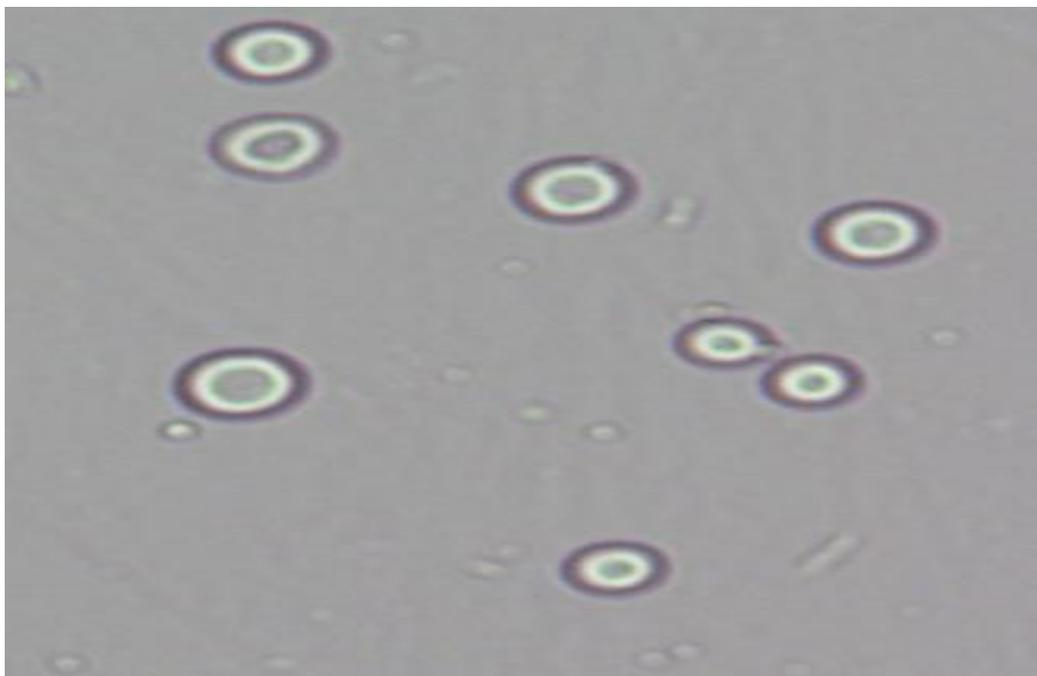


Рисунок 29 – Культура дрожжей после одного месяца выдержки

После одного месяца выдержки в клетках видна цитоплазматическая мембрана, между мембраной и клеточной стенкой образуется периплазматическое пространство. После двух месяцев выдержки цитоплазматическая мембрана разрывается.

Как известно, осмотическим барьером в клетке служит цитоплазматическая мембрана, которая регулирует поступление в клетку питательных веществ и выведение наружу вредных продуктов обмена. Просвечивающей электронной микроскопией были обнаружены разрывы цитоплазматической мембраны. Вероятно, нарушение целостности цитоплазматической мембраны и привело к тому, что дрожжевая клетка сморщилась. Вместе с тем клеточная стенка остается неповрежденной, поэтому содержимое клетки не выходит наружу [123].

Учитывая, что в дрожжевых клетках обнаруживается много лизосом, можно считать, что гидролитические ферменты лизосом вызывают автолиз клеток.

Через 45 сут на светлые зоны приходится примерно 1/3 клеток. К этому сроку отмечается деформация клеточной стенки, которая далее усиливается. В двухмесячных клетках внутриклеточные структуры трудноразличимы.

После 60 сут выдержки цитоплазма становится зернистой и внутриклеточные структуры различить трудно.

Через три месяца выдержки хорошо видны отмершие клетки (черные) и лизирующие клетки (рисунок 30).

Через шесть месяцев почти все клетки отмершие и кое-где клетки приобрели точечную структуру, отдельные обрывки оболочки, она деформирована, произошли цитологические изменения (рисунок 31).

В процессе автолиза в вине изменяются микрорельеф и форма клетки: из гладкой лимonoобразной клетка становится морщинистой, что, вероятно, обусловлено плазмолизом [124].

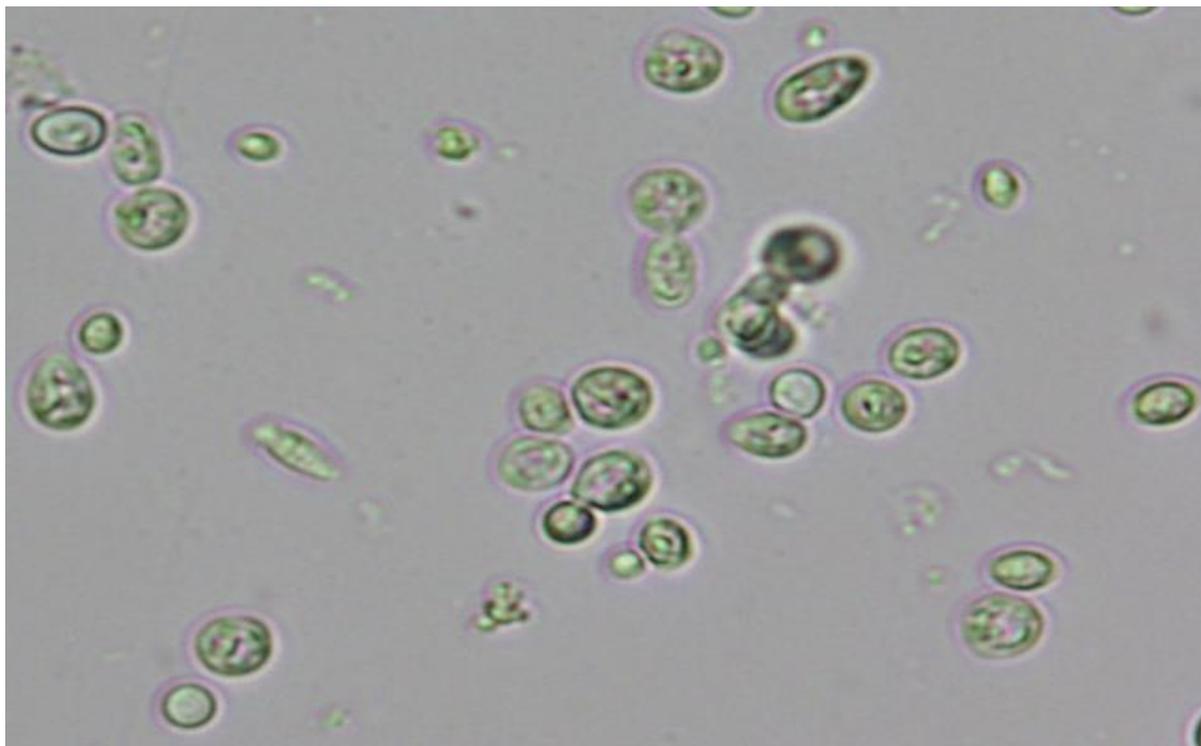


Рисунок 30 – Культура дрожжей после трехмесячной выдержки

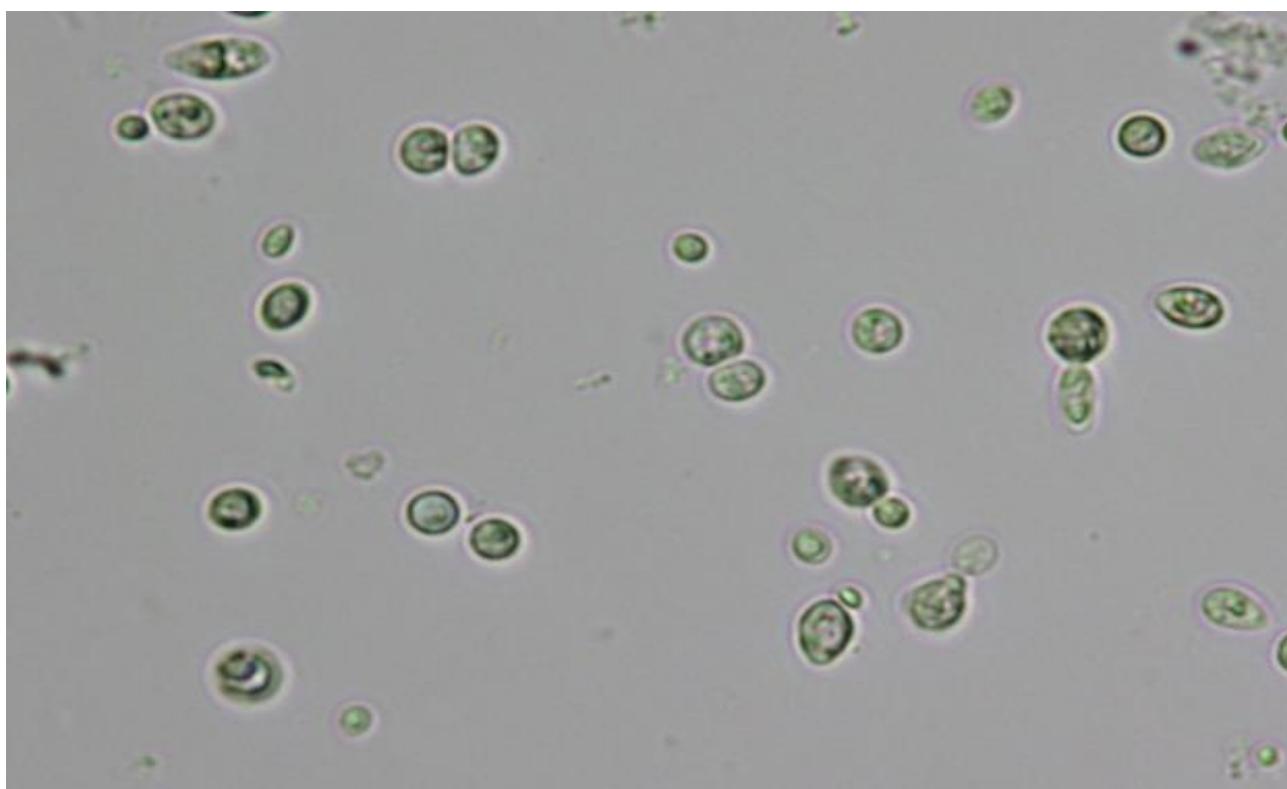


Рисунок 31 – Культура дрожжей после шестимесячной выдержки

Таким образом, при автолизе дрожжей в вине происходят следующие изменения клеточной организации: клеточная стенка не разрушается, цитоплазма из гомогенной становится неоднородной, грубозернистой, между клеточной стенкой и цитоплазмой образуется периплазматическое пространство, в цитоплазме появляются светлые участки. Спустя три месяца при 20 °С светлые зоны, цитоплазматическая мембрана и другие мембраны клетки начинают разрушаться, после чего ультраструктуры клетки становятся неразличимыми.

На основании проведенных биохимических и цитофизиологических исследований изменений, возникающих в дрожжевых клетках при длительной выдержке, механизм процесса автолиза дрожжей в вине представляется следующим образом.

При автолизе дрожжей в вине отсутствие кислорода, сбраживаемых углеводов и повышение концентрации ряда продуктов анаэробного обмена приводит к нарушению клеточного метаболизма [125, 126]. При отмирании клеток барьерные функции клеточных мембран исчезают. Выдержка в вине обуславливает проникновение через мембрану компонентов вина, в частности органических кислот. Это влечет за собой изменение внутриклеточного рН и состояния цитоплазматических гелей, вследствие чего в дрожжевых клетках, согласно полученным данным, активируются протеолитические ферменты [127].

Протеиназа и пептидаза катализируют распад белков и ферментов, выполняющих важные биологические функции в клетках. Указанное вызывает нарушение координированной связи и клеточной регуляции ферментов дрожжей.

Усиление гидролитических реакций обуславливает разрушение субклеточных структур. Подтверждением их деструкции служат микроскопические наблюдения за автолизующимися винными дрожжами. Если при люминесцентной микроскопии молодых дрожжевых клеток отмечается значительное разнообразие цвета и яркости свечения отдельных органоидов, то по мере выдержки сорбционная способность внутриклеточных структур к различным красителям существенно изменяется и после трех месяцев они

люминесцируют практически одинаково. В процессе автолиза винных дрожжей разрушаются ядро, митохондрии и другие органеллы.

Гидролитические процессы приводят к распаду составляющих основу цитоплазмы комплексов белков с липидами и полисахаридами. При наблюдении в фазово-контрастный микроскоп в автолизирующихся клетках винных дрожжей отмечается появление ярко светящихся включений и небольших гранул липоидной природы. В процессе выдержки их количество увеличивается и отдельные липидные шарики переходят в вино [128].

Таким образом, при выдержке вина с дрожжами биохимические изменения в вине обусловлены не только выделением продуктов автолиза дрожжей в вино, как это считалось ранее, но и ферментативной трансформацией отдельных компонентов вина внутри клеток. Указанные положения позволяют изменить некоторые существовавшие концепции о возможности улучшения качества вина специально приготовленными автолизатами дрожжей.

Приведенные сведения показывают роль внутриклеточных изменений в дрожжах при их автолизе в вине. Следует учитывать влияние генетических особенностей и физиологического состояния дрожжевых клеток на ход процесса автолиза [129].

В начальный период голодания в дрожжевых клетках происходят глубокие биохимические сдвиги не только катаболического, но и анаболического характера [130, 131]. Так, в клетках синтезируется ряд ферментов, увеличивается содержание фракций щелочерастворимых белков, что приводит к повышению прочности мембранных структур.

Наличие в дрожжах биохимических механизмов, предотвращающих отмирание клеток, способствует длительному сохранению жизнеспособности винных дрожжей в такой богатой питательными веществами среде, как вино. Распад дрожжевой клетки тормозится и вследствие того, что клеточная оболочка состоит из глюкан- и маннанпротеинов, для разрушения которых необходимы не только протеолитические, но и сахаролитические ферменты, т. е. активации

протеиназ недостаточно для полного автолиза дрожжей в вине. Оболочка клеток быстро лизуется при добавлении к дрожжам наряду с протеазой 1,3-глюканазы. Вероятно, внутриклеточные ферменты, гидролизующие полисахариды, в дрожжах малоактивны.

### **3.4. Усовершенствованная технология белых столовых вин с применением батонажа**

На основании экспериментальных данных, представленных в диссертационной работе, разработана процессуально-технологическая схема производства белых столовых вин с проведением батонажа (рисунок 32).

Технология включает:

- приёмка винограда по количеству и качеству в соответствии с действующей нормативной документацией;

- дробление с гребнеотделением;

Учитывая специфику белых столовых виноматериалов дробление следует проводить в мягких режимах с использованием валковых дробилок.

- отделение сусла-самотёка путём прессования мезги с последующей сульфитацией сусла;

- осветление сусла;

При необходимости для осветления применяют бентонит в количестве 0,2-1 г/дм<sup>3</sup>.

- отстаивание сусла с последующим отделением сусла-самотёка;

- брожение сусла с дображиванием;

С целью снижения высоких концентраций полисахаридов в виноматериале при брожении рекомендуется применять расы дрожжей, обладающие высокой пектолитической активностью – Пино 14, Ркацители 6, Lalvin Rhone, Lalvin EC 1118, ИОС 1002.

Для гидролиза высокомолекулярных соединений азотистых веществ целесообразно использовать дрожжи рас Пино 14, Судак VI-5, Раса 7, Шампанская 7-10С, а также все расы активных сухих дрожжей – ИОС 1002, Lalvin QA23, Lalvin Rhone, Uvaferm GHM, Lalvin EC 1118 и Lalvin RA17.

– батонаж: продолжительность батонажа не более трёх месяцев, температура 16-18 °С, периодичность перемешивания один раз в месяц.

– виноматериал отделяют от дрожжей и направляют на эгализацию с последующими технологическими обработками.

Для проведения батонажа используют герметично закрытые ёмкости из нержавеющей стали с перемешивающим устройством.

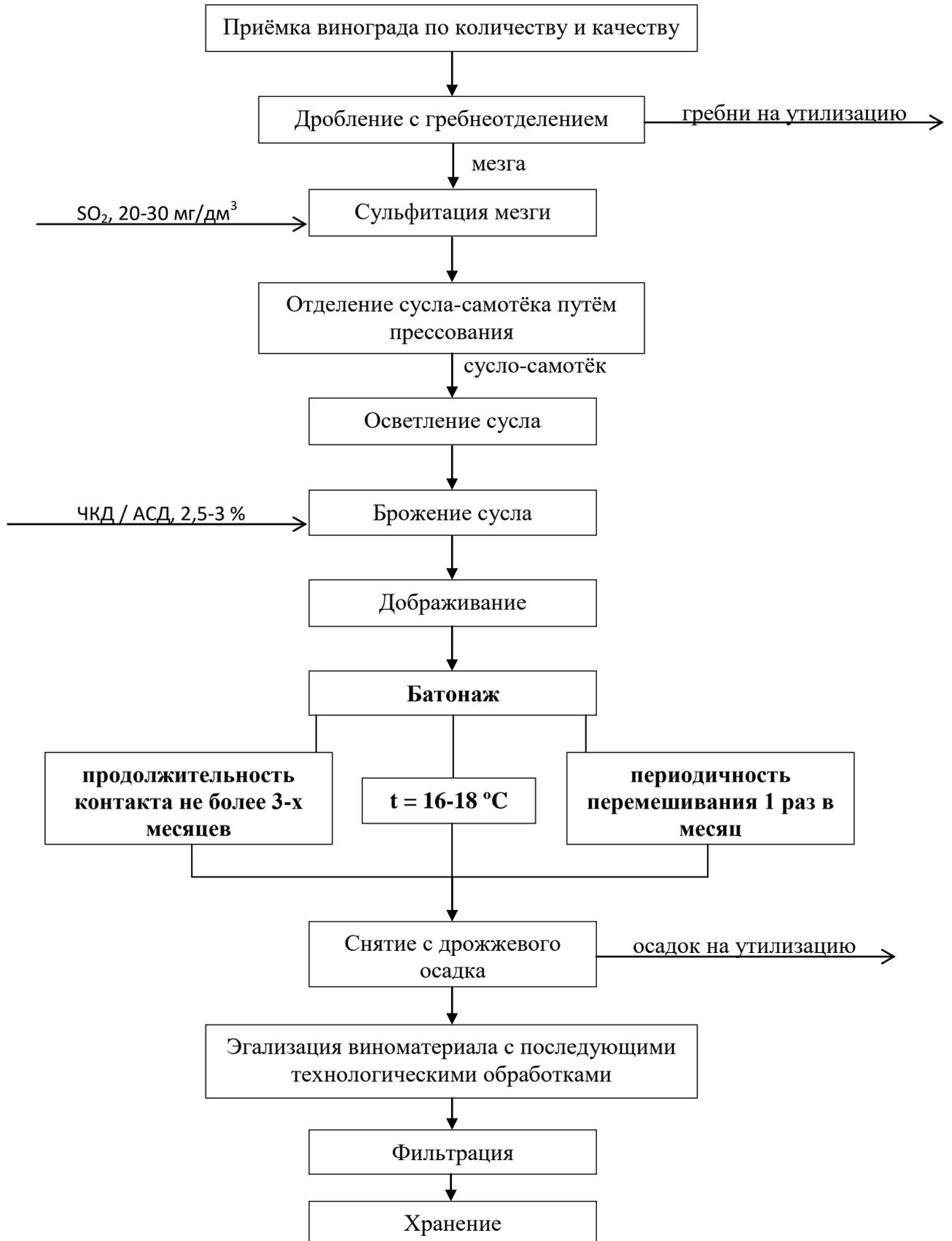


Рисунок 32 – Процессуально-технологическая схема производства белых столовых вин с проведением батонажа

### 3.5 Экономический эффект от внедрения усовершенствованной технологии производства белых столовых вин

На основании проведенных исследований усовершенствована технология производства белых столовых вин с применением технологического приема – батонажа.

Для расчета экономического эффекта были запрошены производственные данные о затратах на изготовление вина по традиционной, применяемой на заводе, технологии и предлагаемой технологии производства вина, предусматривающей применение батонажа – продолжительного контакта виноматериала с дрожжевой биомассой.

Данные для расчета ожидаемого экономического эффекта представлены в таблице 18.

Таблица 18 – Исходные данные для расчета экономической эффективности от внедрения усовершенствованной технологии производства белых столовых вин

№	Показатели	Величина	
		до внедрения	после внедрения
1	Годовой объем выпускаемой продукции, дал	1000	1000
2	Вспомогательные материалы, руб/дал	30,00	31,84
3	Затраты на энергоносители, руб/дал	2,65	2,52
4	Расходы на эксплуатацию оборудования, руб/дал	22,00	22,00
5	Тарифная ставка рабочего 3 разряда, руб/(чел. · час)	83,50	83,50
6	Общезаводские затраты	12,10	12,10
7	Производственная себестоимость 1 дал продукции, руб/дал	637,80	634,3
8	Внепроизводственные расходы, руб/дал	16,20	16,20
9	Средняя себестоимость 1 дал продукции, руб:	582,3	564,8
10	Оптовая цена, руб/дал	824,50	835,70

Для расчета экономического эффекта от производства белого сухого виноматериала необходимо определить:

Изменение выручки от реализации за счет повышения качества производимой продукции:

- на единицу продукции (1 дал):

$$837,50 - 812,50 = 25,00 \text{ руб.}$$

- на годовой объем выпускаемой продукции (1000 дал):

$$25,00 \times 1000 = 250\,000 \text{ руб.}$$

Изменение издержек на производство:

- на единицу продукции (1 дал) в результате увеличения расхода вспомогательных материалов:

$$32,50 - 30,00 = 2,50 \text{ руб.}$$

- на годовой объем выпускаемой продукции (1000 дал) в результате увеличения расхода вспомогательных материалов:

$$2,50 \times 1000 = 2500 \text{ руб.}$$

Изменение прибыли от продаж:

- на единицу продукции (1 дал):

$$25,00 - 2,50 = 22,50 \text{ руб.}$$

- на годовой объем выпускаемой продукции:

$$22,50 \times 1000 = 22\,500 \text{ руб.}$$

Изменение рентабельности продукции:

 процентных пункта.

Экономический эффект производства белого столового виноматериала составит 22500 руб., при годовом объеме выпускаемой продукции – 1000 дал, или 22,5 руб./дал.

## ВЫВОДЫ

Диссертационная работа посвящена совершенствованию технологии белых столовых вин с применением такого технологического приема, как батонаж.

Представленный анализ современного состояния свидетельствует о том, что батонаж не является управляемым или регулируемым процессом. Отсутствуют объективные критерии, свидетельствующие о завершении процесса и необходимости отделения виноматериала от дрожжевого осадка.

В связи с этим проведен комплекс исследований с целью обоснования параметров и режимов батонажа с учетом изменения концентраций азотистых веществ и других компонентов дрожжевой клетки, участвующих в процессах массообмена между дрожжевой клеткой и виноматериалом. В результате систематизации экспериментальных данных сделаны следующие выводы:

1. Научно обоснована и разработана технология производства белых столовых вин с применением батонажа, обоснованы параметры и режимы процесса.

2. Выявлено, что применение батонажа приводит к заметному увеличению концентрации аминного азота в виноматериале. Отмечено, что содержание аминного азота прямо пропорционально продолжительности контакта виноматериала с биомассой дрожжей и обратно пропорционально кратности перемешивания.

3. Установлено влияние расы дрожжей на концентрацию как суммы, так и отдельных аминокислот при батонаже. В течение трёх месяцев контакта виноматериала с дрожжами наибольшее количество тирозина выделяла раса *Zymaflore X5*, треонина – раса *Proelif* и спонтанная микрофлора. Высокая концентрация метионина – протектора сероводородного и мышиноного тонов – выявлена при использовании спонтанной микрофлоры.

4. Установлена прямо пропорциональная зависимость между температурой и накоплением азотистых веществ (аминный азот, аминокислоты). Рекомендован

температурный режим выдержки 16-18 °С в течение не более двух-трёх месяцев.

5. Получены новые данные о динамике изменения активности ферментов – протеиназ и пектиназ – в дрожжевой клетке и в виноматериале. Выявлено, что суммарная активность пектиназ в дрожжевой клетке значительно меньше, чем активность протеиназ. Доказано, что активность протеиназ и пектиназ в биомассе дрожжей и виноматериале различается. В биомассе дрожжей наиболее активны протеиназы рас *Lalvin QA23*, *Lalvin RA17*, *ЮС 1002*, *Ркацители 6*, *Кахури 7*. В виноматериале наибольшая активность протеиназ характерна для рас *Судак VI-5*, *Lalvin EC 1118*, *Шампанская 7–10С*, *Пино 14*.

6. При кратности перемешивания виноматериала и дрожжевой биомассы 1 раз в месяц выявлено увеличение концентрации компонентов липидного комплекса в виноматериале, в том числе жирных кислот.

7. Выявлены следующие закономерности:

– винные дрожжи, имеющие наибольшую активность ферментных систем – протеиназ и пектиназ – обеспечивают производство виноматериалов с меньшими концентрациями высокомолекулярных веществ;

– чем выше активность протеиназ и пектиназ в винных дрожжах, тем больше их секреция в виноматериал и выше их активность в виноматериале;

– чем выше активность протеиназ и пектиназ в винных дрожжах и больше их секреция в виноматериал, тем продолжительнее устойчивость вина к коллоидным помутнениям.

8. Сравнительный анализ электрофоретических профилей белковых фракций виноматериалов по окончании спиртового брожения показал существенное различие в интенсивности и количестве полос, соответствующих протеинам определенной молекулярной массы, в зависимости от расы дрожжей. При использовании расы дрожжей *Oenoferm* в виноматериале выявлены низкомолекулярные белки – от 18 до 31 кДа – 94 %; у расы *Proelif* – 12-16 кДа – 19-23 %; 21-27 кДа – 14-18 %; 35-41 кДа – 14-16 %; остальное – 50-78 кДа; у расы *Zymaflore X5* – 12-16 кДа – 12-17 %; от 20 до 29 кДа – 34-42 %; 34-40 кДа – 6-8 %,

остальное – высокомолекулярные белки (74-98 кДа). Наибольшая гетерогенность белков по молекулярным массам отмечена при сбраживании суслу спонтанной микрофлорой. Выявлены протеины с молекулярными массами 8, 16, 23, 35, 44, 63, 87, 123 кДа.

9. В ходе дегустационной оценки наилучшие результаты были получены в образце, в котором кратность перемешивания виноматериала и дрожжевой биомассы составляла один раз в месяц: виноматериал характеризовался сортовым ароматом, имел полный, мягкий, гармоничный вкус.

10. Установлено изменение физиологического состояния клеток винных дрожжей при батонаже, показано увеличение деформации клеток и количества мертвых дрожжей, изменение микроскопической картины.

11. На основании проведенных исследований разработаны параметры и режимы проведения батонажа:

- продолжительность выдержки виноматериала на осадке винных дрожжей не более трех месяцев;
- периодичность перемешивания один раз в месяц;
- температурный режим 16-18 °С.

12. Разработана и утверждена техническая документация: Технологическая инструкция ТИ 9171-109-02067862-2018 по производству столового белого вина с проведением технологического приема – батонажа. Техническая новизна разработки подтверждена патентом РФ № 2625032 «Способ производства столовых виноматериалов», который внедрен в производство на ОАО «АПФ «Фанагория».

13. Внедрение способа производства столовых виноматериалов привело к сокращению расходов вспомогательных материалов и увеличению выхода продукции на 0,8-1,5 %. Фактический экономический эффект составил 132,6 тыс. рублей при объеме внедрения – 100 тыс. дал.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кузык, Б.Н. Интегральный макропрогноз инновационно-технологической и структурной динамики экономики России на период до 2030 года / Б.Н. Кузык, Ю.В. Яковец; авт. вступ. ст. А.Д. Некипелов. – М.: Институт экономических стратегий, 2006. – 432 с.

2. ГОСТ 32030-2013 Вина столовые и виноматериалы столовые. Общие технические условия. – М.: Стандартинформ, 2014. – 16 с.

3. Лисовец, У.А. Влияние новых рас активных сухих дрожжей на химический состав белых столовых виноматериалов / У.А. Лисовец, Н.М. Агеева // Сборник материалов XIX Международной научно-практической конференции «Современные концепции научных исследований» (г. Москва, 30-31 октября 2015 г.) – М.: Евразийский Союз Ученых (ЕСУ), 2015. – Ч. 2. № 10 (19). – С. 81-83.

4. Лисовец, У.А. Секреция ферментов из дрожжевой клетки в виноматериал в технологии белых столовых вин [Электронный ресурс] / У.А. Лисовец, Н.М. Агеева // Сборник материалов II Международной научно-практической конференции «Инновации в индустрии питания и сервисе», посвященной 75-летию со дня рождения профессора Зайко Г.М. (г. Краснодар, 20-21 октября 2016 г.). – Режим доступа: <https://ntk.kubstu.ru/tocs/35>

5. Авакянц, С.П. Игристые вина / С.П. Авакянц. – М.: Агропромиздат, 1986. – 272 с.

6. Лисовец, У.А. Целесообразность применения батонажа при производстве белых столовых вин / У.А. Лисовец, Н.М. Агеева, А.А. Бложко // Сборник материалов XV Международной научно-практической конференции «Научные перспективы XXI века. Достижения и перспективы нового столетия» (г. Новосибирск, 16-17 октября 2015 г.). – Новосибирск: Международный научный институт «Educatio», 2015. – Ч. 1. – № 9 (16). – С. 96-98.

7. Sur lie & bâtonnage (lees contact and stirring) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [www.brsquared.org](http://www.brsquared.org)

8. Wine words: bâtonnage [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [www.thekitchn.com](http://www.thekitchn.com)
9. Герасимов, М.А. Технология вина. – М.: Типография Московской картонажной ф-ки, 1959. – 637 с.
10. Sur lie aging explained [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [www.winemakersacademy.com](http://www.winemakersacademy.com)
11. Batonnage [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [www.oxidised-burgs.wikispaces.com](http://www.oxidised-burgs.wikispaces.com)
12. Moreno-Arribas, M.V. Wine chemistry and biochemistry / M.V. Moreno-Arribas, M.C. Polo // New York, 2009. – 728 p.
13. Нудель, Л.Ш. Микробиология и биохимия вина / Л.Ш. Нудель, А.В. Короткевич. – М.: Пищевая промышленность, 1980. – 152 с.
14. Barnett, A. Beginnings of microbiology and biochemistry: the contribution of yeast research / A. Barnett, A. James // Microbiology. – 2003. – Vol. 149. – pp. 557-567.
15. Родопуло, А.К. Биохимия виноделия / А.К. Родопуло. – М.: Пищевая промышленность, 1971. – 373. с.
16. Родопуло, А.К. Биохимия шампанского производства / А.К. Родопуло. – М.: Пищевая промышленность, 1975. – 350 с.
17. Родопуло, А.К. Основы биохимии виноделия / А.К. Родопуло. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1983. – 240 с.
18. Агабальянц, Г.Г. Научные основы технологии производства игристых вин / Г.Г. Агабальянц // X Международный конгресс по виноградарству и виноделию: доклады и сообщения. – М., 1962. – Сб. 3. – С. 217-225.
19. Лоза, В.М. Изучение некоторых вопросов технологии производства шампанского бутылочным методом / В.М. Лоза // Труды Краснодарского института пищевой промышленности. – М.: Пищепромиздат, 1961. – Вып. 22. – С. 111-127.
20. Нилов, В.И. Химия виноделия / В.И. Нилов, И.М. Скурихин.– М.:

Пищевая промышленность, 1967. – 442 с.

21. Датунашвили, Е.Н. Биохимические основы технологии применения ферментов в виноделии: автореф. дис. ... д-ра. техн. наук / Датунашвили Елена Николаевна – М.: МТИИПП, 1974. – 55 с.

22. Авакянц, С.П. Биохимические и микробиологические методы исследования дрожжей и вина / С.П. Авакянц, Ф.И. Шакарова.– М.: ЦНИИТЭИпищепром, 1971. – 40 с.

23. Авакянц, С.П. Биохимические основы технологии шампанского / С.П. Авакянц. – М.: Пищевая промышленность, 1980. – 352 с.

24. Авакянц, С.П. Изучение активности ферментов в бродящей среде в условиях управляемого культивирования дрожжей / С.П. Авакянц, И.Д. Белоусова // Прикладная биохимия и микробиология. – 1995. – Т. 11. – Вып. 3. – С. 34-45.

25. Бурьян, Н.И. Микробиология виноделия / Н.И. Бурьян. – Симферополь: Таврия, 2002. – 433 с.

26. Todd, V.E.N. Promotion of autolysis through the interaction of killer and sensitive yeasts: potential application in sparkling wine production / V.E.N. Todd, G.Y. Fleet, P.A. Henschke // Am. J. Enol. Vitic. – 2000. – Vol. 51. – pp. 65-72.

27. Yeast Autolysis by Dr. Murli Dharmadhikari [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.extension.iastate.edu/wine/files/page/files/yeastautolysis1.pdf>

28. Zambonelli, C. Autolysis of yeasts and bacteria in fermented foods / C. Zambonelli, S. Rainieri, C. Chiavari, G. Montanari, M. Benevelli, L. Grazia // Italian Journal of Food Science. – 2006. – №1. – pp. 9-21.

29. Martínez-Rodríguez, A.J. Structural and ultrastructural changes in yeast cells during autolysis in a model wine system and in sparkling wines / A.J. Martínez-Rodríguez, M.C. Polo, A.V. Carrascosa // Int. J. Food Microbiol. – 2001. – vol.71. – pp. 45-51.

30. Cebollero, E. Evidence for yeast autophagy during simulation of sparkling wine aging: A reappraisal of the mechanism of yeast autolysis in wine / E. Cebollero,

A.V, Carrascosa, R. GonzÁlez // *Biotechnol. Prog.* – 2005. – vol. 21. – pp. 614-616.

31. Salmon, Jean-Michel. New trends on yeast autolysis and wine ageing on lees: A bibliographic review / Jean-Michel Salmon // *Journal International Science Vigne and Wine.* – 2002. – vol.36. – p. 19.

32. Alexandre, H. Yeast autolysis in sparkling wine / H. Alexandre, M.G Benatier // *Australian Jour. of Grape and Wine Research.* – 2006. – vol.12. – pp. 119-127.

33. Gonzalez, R. Yeast autolytic mutants potentially useful for sparkling wine production / R. Gonzalez, A.J. Rodriguez, A.V. Carrascosa // *Intern. Jour. of Food Microbiology.* – 2003. – vol. – 84. – pp. 21-26.

34. Римарева, Л.В. Теоретические и практические основы биотехнологии дрожжей / Л.В. Римарева . – М.: ДеЛиПринт. – 2003. – 260 с.

35. Fleet, G. H. Yeast interactions and wine flavor / G. H. Fleet // *International Journal of Food Microbiology.* – 2003. – № 86. – pp. 11-22.

36. Lambrechts, M.G. Yeast and its importance to wine aroma – a review / M.G. Lambrechts, I.S. Pretorius // *S. Afr. J. Enol. Vitic.* – 2000. – vol. 21. – pp. 97-129.

37. Влияние автолизатов на ход послетиражной выдержки шампанского / А.И. Опарин [и др.] // *Виноградарство и виноделие СССР.* – 1946. – № 6. – С.20-25.

38. Ciani, M. Fermentation behavior and metabolic interactions of multistarter wine yeast fermentations / M, Ciani, L. Beco, F. Comitini // *International Journal of Food Microbiology.* – 2006. – № 108. – pp. 239-245.

39. The role of yeasts in grape flavor development during fermentation: the example of Sauvignon blanc / D. Dubourdieu, T. Tominaga, I. Masneuf, C. Peyrot des Gachons, ML. Murat // *American Journal of Enology and Viticulture.* – 2006. – № 57. – pp. 81-88.

40. Фролов-Багреев, А.М. Об автолизатах дрожжей в виноделии / А.М. Фролов-Багреев // *Виноделие и виноградарство СССР.* – 1947. – № 6. – С.29-32.

41 Андреевская, Е.Г. Влияние дрожжей на виноматериалы для

акратофорного шампанского / Е.Г. Андреевская // Виноделие и виноградарство СССР. – 1948. – №4.

42. Russell, Moss. The beauty of self-destruction: yeast autolysis in sparkling wines / Moss Russell // *Grapegrower & Winemaker*. – 2014. – Aug. – pp. 71-73.

43. Erten, H. Relations between elevated temperatures and fermentation behaviour of *Kloeckera apiculata* and *Saccharomyces cerevisiae* associated with winemaking in mixed cultures / H. Erten // *World J. Microbiol. Biotechnol.* – 2002. – № 18. – pp. 373-378.

44. Patynowski, R.J. Yeast viability during fermentation and sur lie ageing of a defined medium and subsequent growth of *Oenococcus oeni* / R.J. Patynowski, V. Jiranek, A. Markides // *Aust. J. Grape Wine Res.* – 2002. – №8. – pp. 62-69.

45. Effects of fermentation temperature on the strain population of *Saccharomyces cerevisiae* / M.J.Torija, N. Rozes, M. Poblet, J.M. Guillamon, A. Mas // *Int. J. Food Microbiol.* – 2002. – №80. – pp. 47-53.

46. Иванов, Н.Н. Исследования над превращением азотистых веществ в дрожжах / Н.Н. Иванов // *Журнал Петроградского агрономического института*. – 1919. – № 1.

47. Dukes, B.C. Rapid determination of primary amino acids in grape juice using an o-phthaldialdehyde / N-acetyl-L-cysteine spectrophotometric assay / B.C. Dukes, C.E. Butzke // *Am. J. Enol. Vitic.* – 1998. – vol. 49. – pp. 125-134.

48. Increase of yeast autolysis in sparkling wines through the modulation of ATG genes. / G. Perpetuini, P. Di Gianvito, R. Tofalo, G. Arfelli, M. Schirone, A. Corsetti, G. Suzzi // 9<sup>th</sup> edition of Enoforum (Vicenza, May 5<sup>th</sup> – 7<sup>th</sup>, 2015): Faculty of BioScience and Technology for Food, Agriculture. – p.123.

49. Глущенко, Л.Ф. К вопросу об управлении жизнедеятельностью микроорганизмов (на примере дрожжей) / Л.Ф. Глущенко, Н.А. Глущенко. – М: Изд-во: Академия Естествознания. – 2010. – 340 с.

50. Герасимов, М.А. Длительное оставление вина на дрожжевой гуще / М.А. Герасимов // Виноделие и виноградарство СССР. – 1953.

51. Теория и практика виноделия. Т. 2: Характеристика вин. Созревание винограда. Дрожжи и бактерии / Ж. Риберо-Гайон, Э. Пейно, П. Риберо-Гайон, П. Сюдро: [ пер. с франц.]; под ред. Г.Г. Валуйко. – М.: Пищевая промышленность, 1980. – 352 с.

52. Фролов-Багреев, А.М. Советское шампанское / А.М. Фролов-Багреев. – М.: Пищепромиздат, 1948. – 268 с.

53. Валуйко, Г.Г. Изменение комплекса азотистых веществ при различных условиях брожения виноградного сусла / Г.Г. Валуйко, В.И. Нилов // Сборник научных трудов ВНИИВиВ «Магарач». – 1959. – Т.7. – С. 72-113.

54. Drawert, F. Gaschromatographische Bestimmung der Inhaltsstoffe von Gärungsgetränken / F. Drawert, G. Leupold // Lebensmittel-untersuchung und Forschung. – 1976. – № 4. – S. 407-414.

55. Исследование летучих азотистых оснований хересных виноматериалов методом газовой хроматографии / З.Н. Кишковский [и др. ] // Прикладная биохимия и микробиология. – 1980. – Т. XVI. – Вып. 3. – С. 446-459.

56. Balasubramanian, M. Comparative analysis of cytokinesis in budding yeast, fission yeast and animal cells / M. Balasubramanian, E. Bi, M. Glotzer // Curr. Biol. – 2004. – Vol. 14. – № 18. – pp. 806-818.

57. Influence of yeast autolysis after alcoholic fermentation on the development of *Brettanomyces* / Dekkera in wine / M. Guilloux-Benatier, D. Chassagne, H. Alexandre, C. Charpentier, M. Feuillat // J. Int. Sci. Vigne Vin. – 2001. – № 35. – pp. 157-164.

58. The yeast ecology of wine grapes / G.H. Fleet, C. Prakitchaiwattana, A.L. Beh, G. Heard // Biodiversity and Biotechnology of Wine Yeasts: Research Signpost. – Kerala, 2002. – pp. 1-17.

59. Fleet, G.H. Yeasts in fruit and fruit products / G.H. Fleet // T. Boekhout, R. Robert Yeasts and Food. Beneficial and Detrimental Aspects. – Hamburg: Behrs Verlag, Hamburg, 2003. – pp. 267-288.

60. Брожение в деревянных бочках [Электронный ресурс]. – Режим доступа:

<http://eniw.ru/brozhenie-v-derevyannyh-bochkah.htm>

61. Оганесянц, Л.А. Научное обоснование и разработка технологий винодельческой продукции с использованием древесины дуба: дис. ...д-ра техн. наук / Оганесянц Лев Арсенович. – Москва, 1998. – 106 с.

62. ГОСТ 13192-73 Вина, виноматериалы и коньяки. Метод определения сахаров (с Изменениями № 1, 2, 3). – М.: ИПК Издательство стандартов, 2003. – С. 195-205.

63. ГОСТ 32000-2012 Продукция алкогольная и сырье для ее производства. Метод определения массовой концентрации приведенного экстракта [Электронный ресурс] // <http://docs.cntd.ru/document/1200105331>

64. ГОСТ 32001-2012 Продукция алкогольная и сырье для ее производства. Метод определения массовой концентрации летучих кислот [Электронный ресурс] // <http://docs.cntd.ru/document/1200104688>

65. ГОСТ 32095-2013 Продукция алкогольная и сырье для ее производства. Метод определения объемной доли этилового спирта [Электронный ресурс] // <http://docs.cntd.ru/document/1200103862>

66. ГОСТ 32114-2013 Продукция алкогольная и сырье для ее производства. Методы определения массовой концентрации титруемых кислот [Электронный ресурс] // <http://docs.cntd.ru/document/1200103864>

67. ГОСТ 32115-2013 / (ГОСТ Р 51655-2000) Продукция алкогольная и сырье для ее производства. Метод определения массовой концентрации свободного и общего диоксида серы [Электронный ресурс] // <http://docs.cntd.ru/document/1200104984>

68. ГОСТ ISO 2173-2013 Продукты переработки фруктов и овощей. Рефрактометрический метод определения растворимых сухих веществ [Электронный ресурс] // <http://docs.cntd.ru/document/1200106944>

69. ГОСТ Р 52841-2007 Продукция винодельческая. Определение органических кислот методом капиллярного электрофореза [Электронный ресурс] // <http://docs.cntd.ru/document/gost-r-52841-2007>

70. Агеева, Н.М. Применение капиллярного электрофореза в виноделии / Н.М. Агеева, Т.И. Гугучкина, Т.И. Якуба // Материалы междунар. науч.-практ. конф. «Садоводство и виноградарство 21 века». – 1999. – Т.5. – С. 148-150.

71. Якуба, Ю.Ф. Возможности применения приборов капиллярного электрофореза «Капель-103» и «Капель-105Р» для исследований алкогольной продукции / Ю.Ф. Якуба, Т.И. Гугучкина, Н.М. Агеева // Шестой ежегодный научно-практический семинар по проблемам аналитического контроля качества вод: тезисы докладов. – 2001. – С.11-13.

72. Якуба, Ю.Ф. Перспективы использования высокоэффективного капиллярного электрофореза / Ю.Ф. Якуба // Наука Кубани. – 1999. – № 5. – С. 24-25.

73. Гержикова, В.Г. Методы технохимического контроля в виноделии / В.Г. Гержикова. – Симферополь: Таврида, 2002. – 260 с.

74. Авакянц, С. П. Ферменты вина: обзор / С. П. Авакянц, И. Д. Белоусова // М.: ЦНТИИТЭИпищепром, 1992. – 64 с.

75. ГОСТ 32051-2013 Продукция винодельческая. Методы органолептического анализа [Электронный ресурс] // <http://docs.cntd.ru/document/1200103859>

76. Бурьян, Н.И. Практические рекомендации по микробиологии вина / Н.И. Бурьян. – Симферополь: Таврида, 2008. – 540с.

77. Агеева, Н.М. Активация алкогольного брожения с помощью янтарной кислоты и ее солей / Н.М. Агеева, Г.Ф. Музыченко, В.В. Дымшевский // Изв. вузов. Пищевая технология. – 1995. – №5-6. – С. 16-18.

78. Lisovets, U. Influence of the new strains of active dry yeast on the chemical composition of white table wines / U. Lisovets, N. Ageeva, A. Blozhko // Materials of the VI International scientific conference «Global science and innovation»(Chicago, November 18-19<sup>th</sup>, 2015). – 2015. – vol. II. – pp. 119-122.

79. Агеева, Н.М. Биохимические процессы, протекающие при батонаже в технологии белых столовых вин / Н.М. Агеева, У.А. Лисовец, А.А. Бложко // Изв.

вузов. Пищевая технология. – 2016. – № 2-3. – С. 24-27.

80. Лисовец, У.А. Биохимические процессы, протекающие при батонаже в производстве белых столовых вин: монография / У.А. Лисовец, Н.М. Агеева / LAP LAMBERT Academic Publishing, 2016. - 80 с.

81. Агеева, Н.М. Влияние температуры на эффективность обменных процессов при батонаже в технологии виноградных столовых вин / Н.М. Агеева, С.А. Бирюкова, У.А. Лисовец // Изв. вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2017. – Т. 7. – № 2 (21). – С. 144-150.

82. Lisovets, U. The change in the qualitative composition of amino acids during the contact with yeast biomass / U. Lisovets, N. Ageeva, A. Blozhko // Proceedings of the IX International scientific-practical conference «The Strategies of Modern Science Development». – North Charleston, 2015. – pp. 38-41.

83. Лисовец, У.А. Исследование изменения качественного состава аминокислот при контакте с дрожжевой биомассой / У.А. Лисовец, Н.М. Агеева, А.А. Бложко // Сборник материалов XXII Международной научно-практической конференции «Научное обозрение физико-математических и технических наук в XXI веке» (г. Москва, 30-31 октября 2015 г.). – М.: Международное научное объединение «Prospero», 2015. – № 10 (22). – С. 55-57.

84. Постная, А.Н. Теоретические и практические основы прогнозирования, предупреждения и устранения пороков виноградных вин: автореф. дис. ... д-ра техн. наук. – Ялта, 1991. – 48 с.

85. Постная, А.Н. Пороки вин, обусловленные серосодержащими веществами и способы их устранения / А.Н. Постная, А.К. Ткач // Садовод., виноградар. и виноделие Молдавии. – 1984. – № 1. – С. 37-39.

86. Якуба, Ю.Ф. Прямое определение фенилаланина, триптофана и тирозина в винах / Ю.Ф. Якуба // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2008. – Т.74. – №2. – С. 15-18.

87. Влияние батонажа на качество белых столовых вин / С.А. Бирюкова [и др.] // Изв. вузов. Пищевая технология. – 2018. – № 5-6 (365-366). – С. 30-33.

88. Агеева, Н.М. Механизмы образования сероводородного тона в виноградных столовых винах / Н.М. Агеева, Г.Ф. Музыченко, С.Д. Бурлака // Изв. вузов. Пищевая технология. – 2015. – № 2-3. – С. 34-36.

89. Лисовец, У.А. Изменение количественного состава аминокислот при батонаже в технологии белых столовых виноматериалов / У.А. Лисовец, Н.М. Агеева, А.А. Ширшова // Виноделие и виноградарство. – 2017. – № 1. – С. 16-20.

90. Лисовец, У.А. Динамика органических соединений при батонаже в технологии белых столовых вин [Электронный ресурс] / У.А. Лисовец, Н.М. Агеева // Сборник материалов Международной научно-практической конференции «Наукоемкие, прорывные технологии в пищевой промышленности» (г. Краснодар, 25 ноября 2016 г.). – Режим доступа: <https://ntk.kubstu.ru/tocs/42>

91. Лисовец, У.А. Изменение количественного состава аминокислот при батонаже в технологии белых столовых виноматериалов [Электронный ресурс] / У.А. Лисовец, Н.М. Агеева, А.А. Ширшова // Научный журнал КубГАУ. – 2016. – № 120(06). – С. 1-10. – Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/archive.asp?y=2016>

92. Агеева, Н.М. Изменение концентрации липидов в виноматериале при батонаже в технологии белых столовых вин / Н.М. Агеева, У.А. Лисовец // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. – 2016. – № 2-3. – С. 57-59.

93. Release of lipids during yeast autolysis in a model wine system / E. Pueyo, A. Martínez-Rodríguez, M.C. Polo, G. Santa-María, B. Bartolomé // J. Agric. Food Chem. – 2009. – № 48. – pp. 116-122.

94. Meer, G. Membrane lipids: where they are and how they behave / G. Meer, D.R. Voelker, G.W. Feigenson // Nature Reviews Molecular Cell Biology. – 2008. – vol. 9. – pp. 112-124.

95. Влияние лизатных материалов винных дрожжей на качество игристых вин / Л.А. Оганесянц [ и др.] // Виноград. – 2009. – № 6.

96. Определение активности ферментов: справочник / Г. Польшалина [и др.].

– М.: ДеЛиПринт. – 2003. – 170 с.

97. Effect of enzymatic hydrolysis on the juice yield from bael fruit (*Aegle marmelos* Correa) pulp / A. Singh, S. Kumar, H.K. Sharma // *American Journal of Food Technology*. – 2012. – vol. 7. – №. 2. – pp. 62-72.

98. Котельникова, А.В. Биохимия дрожжевых митохондрий / А.В. Котельникова, Р.А. Звягильская. – М.: 2003. – 186 с.

99. Release of polysaccharides by yeast and the influence of released polysaccharides on colour stability and wine astringency / S. Escot, M. Feuillat, L. Dulau, C. Charpentie // *Aust. J. Grape Wine Res.* – 2001. – № 7. – pp. 153-159.

100. Зинченко, В.И. Полисахариды винограда и вина / В.И. Зинченко. – М.: Пищевая промышленность, 1978. – 152 с.

101. Villetaz, J.C. Le role des enzymes en oenologie / J.C. Villetaz // *L'O.I.V.* – 2014. – № 12. – pp. 8-16.

102. Агеева, Н.М. Модифицированная технология обработки белых столовых вин против коллоидных помутнений / Н.М. Агеева, У.А. Лисовец // *Научные труды СКЗНИИСиВ.* – 2016. – Т. 9. – С. 279-283.

103. Агеева, Н.М. Секреция белка при брожении и выдержке виноматериала на дрожжевом осадке / Н.М. Агеева, М.Г. Марковский // *Изв. вузов. Пищевая технология.* – 2015. – № 2-3 (344-345). – С. 17-21.

104. F. Brissonnet, F. Characterization of foaming proteins in a Champagne base wine / F. Brissonnet, A. Maujean // *Am. J. Enol. Vitic.* – 1993. – № 44. – pp. 297-301.

105. Hsu, J.C. Isolation and characterization of soluble proteins in grapes, grape juice, and wine / J.C. Hsu, D.A. Heatherbell // *Am. J. Enol.Vitic.* – 1987. – № 38. – pp.6-10.

106. Fractionation and partial characterization of protein fractions present at different stages of the production of sparkling wines / C. Luguera, V. Moreno-Arribas, E. Pueyo, B. Bartolomé, M.C. Polo // *Food Chem.* – 1998. – № 63(4). – pp. 465-471.

107. Fumi, M.D. Immobilization of *Saccharomyces cerevisiae* in calcium alginate gel and its application to bottle-fermented sparkling wine production / M.D. Fumi,

G. Trioli, O. Colagrande // *Am. J. Enol. Vitic.* – 1998. – vol. 39. – pp. 267-272.

108. Influence of yeast strain bentonite addition, and aging time on volatile compounds of sparkling wine / M.A. Pozo-Bayon, E. Pueyo, P.J. Martin-Alvarez, A.J. Martinez-Rodriguez, M.C. Polo // *Am. J. Enol. Vitic.* – 2003. – vol. 54. – № 4. – pp. 273-278.

109. Martínez-Rodríguez, A.J. Structural and ultrastructural changes in yeast cells during autolysis in a model wine system and in sparkling wines / A.J. Martínez-Rodríguez, M.C. Polo, A.V. Carrascosa // *International Journal of Food Microbiology.* – 2001. – vol. 71. – № 1,4. – pp.45-51.

110. E. Cebollero, A.V. Evidence for yeast autophagy during simulation for sparkling wine aging: a reappraisal of the mechanism of yeast autolysis in wine / E. Cebollero, A.V. Carrascosa, R. González // *Biotechnol. Prog.* – 2005. – № 21. – pp.614-616.

111. Тишин, В.Б. Культивирование микроорганизмов. Кинетика, гидродинамика, тепломассообмен / В.Б. Тишин. – СПб., 2012. – 181 с.

112. Агеева, Н.М. О содержании диметилсульфида в красных столовых виноматериалах / Н.М. Агеева, Р.В. Гублия // *Виноделие и виноградарство.* – 2011. – № 6. – С. 26-28

113. Шандерль, Г. Микробиология соков и вин: [пер. с нем.] / Г. Шандерль: под ред. Могилянского Н.К. – М.: Пищевая промышленность, 1967. – 359 с.

114. Агеева, Н.М. Особенности батонажа в технологии красных столовых вин / Н.М. Агеева, С.А. Бирюкова, У.А. Лисовец // *Изв. вузов. Прикладная химия и биотехнология.* – 2018. – Т. 8. № 3 (26). – С. 99-104.

115. Лисовец, У.А. О целесообразности применения батонажа в технологии батонажа в технологии красных столовых вин / С.А. Бирюкова [и др.] // *Научные труды СКФНЦСВВ.* – 2018. – Т. 15. – С. 145-152.

116. Способ производства столовых виноматериалов: пат. № 2625032, МПК C12G1/01 / Агеева Н.М., Бирюкова С.А., Гонтарева Е.Н., Лисовец У.А.; ФГБНУ «Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства

и виноградарства» 2016150365; заявл.м 20.12.2016; опубл. 11.07.2017. Рус.

117. Zhao, J. and Fleet, G.H. Degradation of RNA during the autolysis of *Saccharomyces cerevisiae* produces predominantly ribonucleotides / J. Zhao, G.H. Fleet // *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. – 2005. – vol. 9. – pp. 415-423.

118. Иванова, Е.В. Селекция высокоэффективных штаммов дрожжей рода *Schizosaccharomyces* для винодельческой промышленности: автореф. дис. ... канд. техн. наук. – Ялта, 1991. – 24 с.

119. Maintenance and protection of yeast morphology by contact with wine polyphenols during simulation of wine aging on lees / J. M. Salmon, P. Vuchot, T. Doco, M. Moutounet // *J. Food Sci.* – 2003. – vol. 68. – pp. 1782-1787.

120. Electrostatic generation of alginate microbeads loaded with brewing yeast / V.A. Nedovic, B. Obradovic, I. Leskosek-Cukalovic, O. Trifunovic, R. Pesic, B. Bugarski // *Process Biochemistry*. – 2001. – vol. 37. – pp.17-22.

121. Риберо-Гайон, Ж. Теория и практика виноделия / Ж. Риберо-Гайон, Э. Пейно, П. Риберо-Гайон, П. Сюдро. – М.: Пищевая промышленность, 1979. – 352 с.

122. Иванова, Е.В. Новый комплексный препарат активных сухих дрожжей сахаромецетов и молочнокислых бактерий / Е.В. Иванова, С.А. Кишковская, И.Я. Краузе // Тез. докл. Всесоюз. научно-практич. конф. молодых ученых и специалистов виноградо-винодельческой отрасли. – Одесса, 1991. – С. 73-74.

123. Кишковская, С.А. Разработка технологии биологического кислотопонижения виноградного сула, мезги и вин с использованием дрожжей рода *Schizosaccharomyces*: дис. ... д-ра техн. наук. – Ялта, 1990. – 252 с.

124. Косюра, В.Т. Игристые вина: История, современность и основные направления производства: монография / В.Т. Косюра. – Краснодар, 2006. – 504 с.

125. Валуйко, Г.Г. Технология виноградных вин / Г.Г. Валуйко. – Симферополь: Таврия, 2001. – 624 с.

126. Кишковская, С.А. Дрожжи рода *Schizosaccharomyces* и их роль в

технологии виноделия / С.А. Кишковская // Итоги науки и техники ВИНТИ. Сер. Химия и технология пищевых продуктов. – 1992. – Т. 8. – С.1-76.

127. Валуйко, Г.Г. Стабилизация виноградных вин / Г.Г. Валуйко, В.И. Зинченко, Н.А. Мехузла. – Симферополь: Таврида, 2002. – 208 с.

128. Оставление вина на дрожжевом осадке [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [http://atdrinks.ru/ostavlenie\\_vina\\_na\\_drojevom\\_osadke](http://atdrinks.ru/ostavlenie_vina_na_drojevom_osadke)

129. Макаров, А.С. Производство шампанского / А.С. Макаров; под ред. Валуйко Г.Г. – Симферополь: Таврия, 2008. – 416 с

130. Лисовец, У.А. Научные ответы на вызовы современности: техника и технологии. В 2-х кн. Кн. 2: монография / [авт. коллектив: Н.М. Агеева, А.П. Бирюков, И.Я. Львович и др.]. – Одесса, 2016. – 189 с.

131. Кишковский, З.Н. Технология вина / З.Н. Кишковский, А.А. Мержаниан . – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1994. – 504с.

## **ПРИЛОЖЕНИЕ А**

### **Объекты интеллектуальной собственности**

## РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2625032

## Способ производства столовых виноматериалов

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства" (RU)*

Авторы: *Агеева Наталья Михайловна (RU), Бирюкова Светлана Александровна (RU), Гонтарева Елена Николаевна (RU), Лисовец Анна Александровна (RU)*

Заявка № 2016150365

Приоритет изобретения 20 декабря 2016 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 11 июля 2017 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 20 декабря 2036 г.

Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



(19) **RU** <sup>(11)</sup> **2 625 032**

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

**(12) ИЗВЕЩЕНИЯ К ПАТЕНТУ НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

---

**ТС4А** Изменение сведений об авторе(ах)

(72) Автор(ы):

Агеева Наталья Михайловна (RU),  
Бирюкова Светлана Александровна (RU),  
Гонтарева Елена Николаевна (RU),  
Лисовец Ульяна Александровна (RU)

Дата внесения записи в Государственный реестр: 28.08.2018

Дата публикации и номер бюллетеня: 28.08.2018 Бюл. №25

---

**RU 2 6 2 5 0 3 2**

**RU 2 6 2 5 0 3 2**

**ПРИЛОЖЕНИЕ Б**  
**Техническая документация**

Министерство образования и науки Российской Федерации  
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Кубанский государственный технологический университет»  
(ФГБОУ ВО «КубГТУ»)

ОКПД 2 11.02.12.110  
ОКП 91 71



УТВЕРЖДАЮ  
проректор по ПИРиМД  
д-р техн. н., профессор  
С. А. Калманович  
12 2018 г.

**ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ИНСТРУКЦИЯ**  
**по производству столового белого вина с проведением технологического**  
**приема – батонажа**

**ТИ 9171-109-02067862-2018**  
**(вводится впервые)**

Дата введения в действие \_\_\_\_\_

РАЗРАБОТАНО  
ФГБОУ ВО «КубГТУ», ИПиПП  
Профессор кафедры  
Технологии виноделия и  
броидильных производств  
д-р техн. н., профессор  
Н. М. Агеева

Аспирант кафедры  
Технологии виноделия и  
броидильных производств  
У. А. Лисовец

## **ПРИЛОЖЕНИЕ В**

### **Результаты внедрения научных исследований**



Егоров Е.А.  
2017 г.



Романишин П.Е..  
2017 г.

### Акт внедрения

охраняемых результатов научно-исследовательских, опытно-конструкторских и технологических работ Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия

Заказчик ОАО «АПФ «Фанагория», генеральный директор Романишин П.Е.  
(наименование организации, ф.и.о. руководителя организации)

РИД «Способ производства столовых виноматериалов», патент № 2625032  
(в основе способа – проведение контакта белых и красных столовых виноматериалов с биомассой дрожжей при периодическом перемешивании)  
(наименование и номер охранного документа РИД, используемого в выполненной НИР)

Настоящим актом подтверждается, что результаты работы по внедрению способа производства столовых виноматериалов с проведением их контакта с дрожжевой биомассой и периодическим перемешиванием (батонаж) обеспечил улучшение качества столовых вин, их органолептических показателей, ускорил процесс метаболизма винных дрожжей, обогащение виноматериала ферментами дрожжевой клетки, что привело к сокращению расходов вспомогательных материалов и увеличению выхода виноматериалов на 0,8-1,5 %

выполнены в научном центре «Виноделие» ФГБНУ СКФНЦСВВ  
(отдел, лаборатория)

в срок с 2016 г. по 2017 г.

1. Новизна результатов НИР модернизация известных разработок  
(принципиально новые, качественно новые, модификация, модернизация старых разработок)
2. Номер охранного документа Патент № 2625032, приоритет изобретения 20 декабря 2016 г., зарегистрировано в Госреестре изобретений РФ 11 июля 2017 г.  
(указать номер патента, дату приоритета и дату регистрации)
3. Годовой экономический эффект:  
- ожидаемый 132,6 тыс. руб.  
(от внедрения в проект)  
- фактический \_\_\_\_\_ руб.
4. Удельная экономическая эффективность внедренных результатов \_\_\_\_\_ тыс. руб.
5. Объем внедрения 100 тыл дал
6. Социальный и научно-технический эффект улучшение качества продукции (охрана окружающей среды, улучшение и оздоровление условий труда и т.д.)

#### От СКФНЦСВВ

Руководитель НИР  
Гугучкина Т.И.

Ответственный исполнитель  
Агеева Н.М.

Исполнители  
Бирюкова С.А.  
Лисовец У.А.

#### От предприятия

Гл. специалист отрасли  
\_\_\_\_\_

## **ПРИЛОЖЕНИЕ Г**

### **Апробация работ**



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ  
Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего образования  
«КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ»

VIII Конкурс молодежных научных  
и инновационных проектов «InnoTech 2018»

# ДИПЛОМ

I степени

*награждается*

**Лисовец Ульяна  
Александровна**

за проект:

**«Биотехнологические пути решения  
проблем виноделия»**

по направлению:

**«Пищевые технологии, конструирование, экспертиза  
и безопасность продуктов питания»**

(научный руководитель - профессор Агеева Наталья  
Михайловна)

И. о. ректора КТУ  
профессор



*И.Б. Красина*  
И.Б. Красина

Краснодар, 2018



*Scientific Publishing Center "Discovery"*

# DIPLOMA

**AWARDED**

**Lisovets Uliana A.**

*for participation*

**in IX International**

**scientific - practical conference**

**«The Strategies of Modern Science Development»**

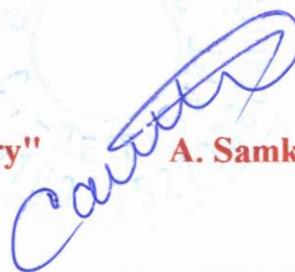
**in the section «Engineering»**

**16-17 October 2015**

**North Charleston, SC, USA**

**Editor in Chief of Research Center "Discovery"**

**A. Samko**



# Сертификат



**«Научные перспективы XXI века. Достижения и  
перспективы нового столетия»**

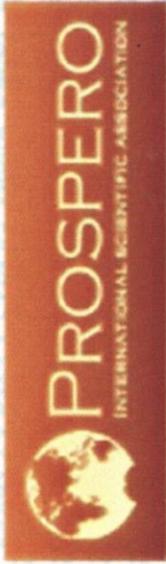
**Лисовец Ульяна Александровна**

**ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ БАТОНАЖА ПРИ  
ПРОИЗВОДСТВЕ БЕЛЫХ СТОЛОВЫХ ВИН**



*У. Лисовец*

**Вершинин Б.М., д.э.н., профессор**



## Сертификат

XXII МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ:  
«Научное обозрение физико-математических и  
технических наук в XXI веке»  
(Россия, г. Москва, 30-31.10.2015г.)

*Лисовец Ульяна Александровна*

ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КАЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА АМИНОКИСЛОТ ПРИ  
КОНТАКТЕ С ДРОЖЖЕВОЙ БИОМАССОЙ

*д.ф-м.н. Вешинский Дмитрий Федорович*



# СЕРТИФИКАТ

## «Современные концепции научных исследований»

**Лисовец Ульяна Александровна**

ВЛИЯНИЕ НОВЫХ РАС АКТИВНЫХ СУХИХ ДРОЖЖЕЙ НА  
ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ БЕЛЫХ СТОЛОВЫХ ВИНОМАТЕРИАЛОВ

Д.ю.н. Каркушин Дмитрий Петрович