

МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО СПЕЦИАЛЬНОГО
ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН
ТАШКЕНТСКИЙ ХИМИКО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

На правах рукописи

УДК 663.252.4

РАСУЛОВА ТУРСУНОЙ АБДУМАЖИДОВНА

ИЗУЧЕНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ ПРИ ОТСТОЕ
ВИНОГРАДНОГО СУСЛА

Диссертация на соискание академической степени магистра

Специальность 5А 522907 «Биотехнология пищевых продуктов и кормов»

Научный руководитель

к.т.н.доцент:

Сапаева З.Ш.

рекомендована к публичной защите на основании

постановления заседания кафедры

«Биотехнология» «_____» _____ 2011 г.

Заведующий кафедры.

к.б.н. доцент

Ташмухамедов М.С.

Заведующий отдела

магистратуры к.т.н.

Муталов Ш. А.

Ташкент 2011

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ГЛАВА 1 ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ ВИН	
1.1. Биотехнология, ферменты.....	7
1.2. Переменно-пористый многослойный картон для осветления винодельческой продукции.....	10
1.3. Производство виноградных соков прямого отжима.....	14
1.4. Дисперсность сухого красного вина	21
1.5. Криомацерация при производстве вин.....	22
1.6. Новый препарат для осветления натуральных виноматериалов.....	26
1.7. Ферментация сусла и мезги	26
1.8. Ферменты, применяемые в виноделии	30
ГЛАВА II МЕТОДЫ АНАЛИЗА ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СУСЛА.	
2.1. Описание объекта исследования.....	33
2.2. Методы анализа	36
2.3. Постановка эксперимента.....	40
ГЛАВА 3. БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СОВРЕМЕННЫХ СПОСОБОВ ОСВЕТЛЕНИЯ	
3.1. Результаты эксперимента.....	43
3.2. Обсуждение	51
ВЫВОДЫ	61
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	62
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ.....	69

ВВЕДЕНИЕ

Важнейшим приоритетом социально-экономического развития Узбекистана на 2009-2012 годы, является реализация антикризисной программы. Планируется за счет увеличения производства сельскохозяйственной продукции создать мощную сырьевую базу и широкое поле деятельности для формирования на селе новых, современных перерабатывающих предприятий, оснащенных компактными технологиями [1].

В 12.06.07. разработана и реализуется программа по модернизации пищевой и жировой промышленности, предусматривающая модернизацию 63 предприятий из них 10 с участием иностранных инвестиций [2] в частности для заводов первичного виноделия.

Биотехнология — это производство необходимых человеку продуктов и материалов с помощью живых организмов, культивируемых клеток и биологических процессов. Объектами биотехнологии служат многочисленные представители групп живых организмов— микроорганизмы (вирусы, бактерии, протисты, дрожжи и др.}, растения, животные, а также изолированные из них клетки и субклеточные структуры (органеллы). Главными направлениями биотехнологии являются:

1) производство с помощью микроорганизмов и культивируемых клеток биологически активных соединений (ферментов, витаминов, гормональных препаратов), лекарственных препаратов (антибиотиков, вакцин, сывороток, высокоспецифичных антител и др.), а также белков, аминокислот, используемых в качестве кормовых добавок;

2) применение биологических методов борьбы с загрязнением окружающей среды (биологическая очистка сточных вод, загрязнений почвы и т. и.) и для защиты растений от вредителей и болезней;

3) создание новых полезных штаммов микроорганизмов, сортов растений, пород животных и т. п.

В настоящее время возникло направление биотехнология пищевых продуктов, занимающая определяющую роль в обеспечении производства и реализации высококачественных, конкурентоспособных, экологически чистых реализация высококачественных, конкурентоспособных экологически чистых марочных вин в ассортименте, особенно красных столовых.

Общая потребность инвестиций для финансирования программы модернизации технологических процессов в виноделии на 2007-2012 гг. составит 18,9 млн сум. За счет модернизации, технического и технологического перевооружения действующих предприятий и создания новых производств в 2007-2012гг. объем выпуска вина возрастет по сравнению с 2006 г. на 1102 тыс. дал., что позволит увеличить производство винодельческой продукции на сумму с 99,7 в 2006г. до 140 млрд сум в 2012г. (темп роста составит 140,4%) [3].

Актуальность. В результате биокаталитического действия 0-дифенолоксидазы, содержащейся в виноградном сусле, в присутствии растворенного кислорода протекают окислительные реакции В созревании сусла участвуют также пектолитические и протеолитические ферменты. В результате изменяется химический состав сусла: накапливаются продукты окисления фенольных соединений, уменьшается количество белкового и общего азота. В связи с этим усиливается актуальность изучения биотехнологических процессов при осветлении виноградного сусла [4].

Цель исследования состоит в изучении ферментативных процессов в сусле. Для достижения поставленной цели определили задачи исследования, которая состоит в изучении ферментов, в частности

окислительных, при осветлении виноградного сусла различными способами (по существующему и модернизированному способам).

Научная новизна исследования состоит в установлении автором активности окислительных ферментов при современном осветлении сусла, которое позволяет сократить сроки выдержки при отстое и кроме того, позволяет улучшить качество готовой продукции.

Предметом исследования выбраны ферменты системы окислительной защиты: Супероксиддисмутаза (СОД), защищающая клетку от активных форм кислорода; ферменты каталаза и пероксидаза, катализирующие перекисное окисление;

Протеиназа катализирует расщепление белков виноградного сусла.

Объект исследования. Виноградное неосветленное сусло, полученное из смеси белых и красных сортов винограда.

Практическая значимость определяется сокращением времени при осветлении. Модернизированный процесс ферментации при осветлении позволяет улучшить качество готовой продукции. Современные способы осветления позволяют сократить сроки осветления с 14-16 часов до 4 часов. При этом, сокращаются потери основного сырья.

Апробация. Результаты научных исследований представлены на XX научно-технической конференции молодых ученых, магистрантов и студентов бакалавриата. «Умидли кимёгарлар-2011» 2-том С.95-96 . ТашХТИ.2011й.

Объем и структура диссертационной работы. Диссертационная работа изложена на 70 стр, 4.таблицы и 5 рисунка.

Во введении проведено ознакомление с проблемами по теме диссертации, актуальность, цель и задачи исследования, научная новизна, предмет и объект исследования, практическая значимость и т.д.

Первая глава «Ферментативные процессы при производстве вин» посвящена литературному обзору по теме диссертации.

Во второй главе описаны методы анализов, постановка экспериментов и объект исследования.

Третья глава состоит из результатов эксперимента, их обсуждения и выводы.

Список использованных источников состоит из 75 наименований, в том числе 6 иностранных и 69 отечественных периодических изданий, книг, и 12сайтов интернета.

Материально-техническая база выполненной работы. Эксперименты и анализы проведены в лаборатории Ташкентского химико-технологического института.

ГЛАВА 1. ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ ВИН

1.1. Биотехнология, ферменты. Биотехнология – уникальная наука, ибо она использует живые организмы и биологические процессы в практических интересах человека. Имея грандиозные перспективы, она в большой степени зависит от развития фундаментальных наук: микробиологии, биохимии, генетики, молекулярной биологии, а также от таких наук, как физика, математика и экономика.

Современная биотехнология позволила во многих отраслях промышленности заменить традиционные методы получения продуктов, необходимых человеку: синтез искусственных приправ, полимеров, получение биогаза, этанола, метанола, выделение некоторых металлов. Выращивание дрожжей, бактерий с целью получения белка одноклеточных, аминокислот, витаминов, ферментов, увеличение продуктивности сельскохозяйственных животных благодаря клонированию и селекции, использование перспективных тканевых и клеточных структур, производство гормонов, вакцин, антибиотиков также представляют биотехнологические процессы [5].

Биотехнология – это промышленное использование биологическое процессов и продуктов биосинтеза для получения высокоэффективных форм микроорганизмов, культур клеток, тканей растений и животных с заданными свойствами. Биотехнология как наука возникла на стыке биологических, химических и технических наук. Голландский ученый Е. Хаувинк историю биотехнологии условно разделил на пять периодов.

До пастеровская эра (до 1865).

После пастеровская эра (1866–1940).

Эра антибиотиков (1941–1960).

Эра управляемого биосинтеза (1961–1975).

Эра новой биотехнологии (после 1975).

Биологическое окисление в самом широком смысле – это окисление органических веществ в живой клетке. Известны три его типа: прямое окисление молекулярным кислородом; окисление донора, отдающего ионы водорода за счет акцептора, соответственно присоединяющего их, и окисление одной ионной формы в другую за счет переноса электрона (например, в дыхательной цепи).

Необходимо отметить, что в природе существует ряд веществ, которые не сбраживаются в анаэробных условиях, но в присутствии молекулярного кислорода окисляются полностью. Это каротиноиды, стероиды, углеводороды (ароматические и насыщенные алифатические), при внутримолекулярном расщеплении которых энергия не выделяется.

Протеолитические препараты. Основным субстратом, который действует протеолитические ферменты, является белковые вещества. К ним относятся простые белки, состоящие только из аминокислот, которые называют протенами, и сложные белковые вещества, в состав которых наряду с белковой молекулой входят соединения небелковой природы (углеводы, витамины, жиры и др.) Такие сложные белковые вещества называют протеидами.

Вещества белковой природы составляет основу любой живой клетки, играют огромную роль в обмене веществ животных и микроорганизмов и являются опорными и защитными веществами в живом организме.

Предусматривает условное деление белков на четыре группы по растворимости:

1) альбумины-белки, растворимые в воде и слабых солевых растворах;

- 2) глобулины-белки, растворимые в растворах нейтральных солей;
- 3) проламины-белки, нерастворимые в воде, но растворимые в 70-80%-ном этиловом спирте;
- 4) глютелины-белки, растворимые в разбавленных кислотах и щелочах.

Белки обычно несут механические функции и относятся к склеропротеинам;

они участвуют в формировании клеточных стенок и образуют цепные решетки фибрилл.

В первичном виноделии на стадии получения соков из винограда, плодов и ягод применяются пектиназы и ферменты, разрушающие клеточные стенки, глюкозооксидаза, каталаза и протеолитические ферменты.

Классификация ферментов основана на типе реакции, катализируемой ферментом [7-9]. Это в основном шесть классов:

Оксидоредуктазы; трансферазы; гидролазы; лиазы; изомеразы; лигазы (синтетазы);

Оксидоредуктазы катализируют окислительно-восстановительные реакции. Оксидоредуктазы делятся на 14 подклассов.

Трансферазы катализируют реакции переноса атомных группировок от одного соединения к другому. Трансферазы включают на 106 наименований подклассов.

Гидролазы катализируют реакцию расщепления сложных соединений на более простые с присоединением воды. Номенклатура этого фермента состоит из 217 ферментов, которые подразделяются на 9 подклассов.

Лиазы осуществляют негидролитическое отщепление от субстрата определенных групп с образованием двойных связей. Этот класс включает 117 наименований ферментов.

Изомеразы катализируют изомеризацию органических соединений и включает всего 47 ферментов.

Лигаза катализируют синтез сложных органических соединений из простых [6].

Ферменты вносятся в виде фермент катализирующих препаратов (0,1-0,03% к массе сырья) В результате несколько возросло содержание пектиновых веществ в сусле, увеличивается скорость фильтрации и повышается процентное содержание сахаров.

1.2. Переменно-пористый многослойный картон для осветления винодельческой продукции. При фильтровании винодельческой продукции отделение загрязняющих веществ от фильтруемой среды и скорость процесса должны быть максимальными. Для успешного решения этих задач необходимо правильно выбрать не только конструкцию фильтровального аппарата и условия фильтрования, но и пористую фильтровальную перегородку, то есть фильтр-картон.

Технология очищения виноматериалов на предприятиях винодельческой промышленности предусматривает дифференцированное применение фильтр-картона в зависимости от первоначальной степени загрязнения фильтруемой среды. По эффекту осветления фильтр-картон подразделяют на 4 класса: грубый, средний осветлительный, тонкий осветлительный и стерилизующий. Согласно отечественным стандартам для каждого класса фильтрования вырабатывают определенную марку картона.

В свою очередь, технологический процесс изготовления фильтр-картона направлен на придание ему развитой пористой структуры,

обеспечивающей глубинный характер удержания посторонних частиц из фильтруемой жидкости [10].

Традиционно в отечественной практике фильтр-картон вырабатывают однослойным, с одинаковым композиционным составом.

Однако в соответствии с научными данными эффективность фильтрования повышается при применении картона с переменной пористой структурой по ходу движения фильтруемой среды. Для более полного использования пространства пор и увеличения ресурса работы фильтр-картон необходимо изготавливать из двух слоев. Каждый из них имеет поры разного объема и размера, которые должны уменьшаться по ходу движения фильтруемой среды, что позволит улучшить ресурсные и качественные характеристики картона.

Основное условие при разработке технологии изготовления переменнo-пористого фильтр-картона — возможность многослойного отлива полотна на машине для производства фильтр-картона и наличие двух разных технологических потоков подготовки и подачи компонентов композиции.. Машина оснащена нижней и 5 плоскими верхними сетками и позволяет вырабатывать многослойный фильтр-картон (до 6 слоев), причем композиционный состав каждого слоя может быть одинаковым или разным.

Эти технические характеристики потока машины К- 14А обеспечивают возможность освоения выпуска новых уникальных по свойствам марок фильтр-картона, особый интерес из которых представляет фильтр-картон, изготавливаемый многослойным способом, причем нижний и два верхних слоя различаются по композиционному составу (разнопористая структура).

Многослойное формирование фильтр-картона значительно расширяет возможности варьирования его потребительских свойств. В процессе осветления виноматериалов с помощью такого картона можно заменять две стадии фильтрования (грубую, тонкую).

Одной при высокой эффективности улавливания частиц мути и пропускной способности фильтр-картона.

Технология изготовления многослойного фильтр-картона включает подготовку волокнистых полуфабрикатов по двум разделительным потокам из массы разного композиционного состава, параметры и режим отлива полотна по слоям, конструкцию установки и схему нанесения латекса на верхнюю мелкопористую сторону полотна фильтр-картона.

Промышленное применение многослойного фильтр-картона обеспечило замену двух последовательных стадий фильтрования виноматериалов (грубое через марку Г и среднее осветление через марку КТФ-1П) одной через двухслойные переменнo-пористые пластины. В результате отмечено, что (см. рисунок):

прозрачность всех партий виноматериалов, профильтрованных через двухслойные переменнo-пористые пластины, выше, чем через фильтры марок Т\л КТФ- 1П; скорость фильтрования через переменнo-пористые пластины в целом за цикл выше, чем при двойном последовательном фильтровании; в 1,5-2 раза снижается расход переменнo-пористого фильтр-картона (по сравнению с использованием пластин для двойного фильтрования) из расчета на 1000 дал профильтрованного виноматериала;

исключаются потери виноматериалов на впитывание с отработанным фильтр-картоном за счет сокращения одной стадии фильтрования;

предлагаемый фильтр-картон соответствует высшей категории качества по физико-механическим показателям, а по задерживающей способности — тонкому осветлительному классу фильтрования со стерилизующим эффектом.

Промышленное применение переменнo-пористого фильтр-картона позволяет сделать вывод, что разработанная технология его производства и композиция элементных слоев обеспечивают получение показателей фильтр-

картона с высокой задерживающей способностью и необходимой производительностью фильтрации виноматериалов [12]. Многослойный фильтр-картон превосходит известные марки по механической прочности во влажном состоянии и полностью удерживает частицы модельной среды размером 0,15 мкм.

Предлагаемый фильтр-картон под маркой КФМ включен в ГОСТ 12290-89 «Картон фильтровальный для пищевых жидкостей» и предназначен для совмещенного грубого и тонкого осветлительного фильтрования виноматериалов, напитков на основе виноградного сырья, шампанского и игристых вин.

Картон марки КФМ вырабатывают из высококачественных облагороженных полуфабрикатов. Он не требует предварительной обработки, как и направляемый на фильтрацию виноматериал, так как обеспечивает одновременное грубое и тонкое фильтрование.

При использовании фильтр-картона следует учитывать некоторые его особенности, влияющие на качество фильтрации [13].

Для устранения отделения волокнистых включений и попадания их в фильтрат фильтр-картон с одной стороны покрывают латексом кремового или светло-бежевого оттенка. При фильтровании эта сторона должна быть обращена к выходу чистого фильтрата.

Во избежание разрыва фильтр-картона при резких перепадах давления необходимо соблюдать определенную скорость потока, не превышать допустимое фильтрационное давление (0,3-0,35 МПа, то есть 3,0-3,5 кгс/см²), не допускать резких перепадов давления при открытии и закрытии вентилей между питательным насосом и фильтр-прессом.

Использование картона марки КФМ в процессе фильтрования виноматериалов позволяет виноделам получить высокий экономический эффект за счет снижения расхода фильтр-картона, трудовых и

энергетических затрат и отказаться от закупки дорогостоящих импортных фильтр-картонов [14].

1.3. Производство виноградных соков прямого отжима.

Производство соков — одна из наиболее быстрорастущих отраслей плодово-овощной промышленности, как в нашей стране, так и за рубежом. Увеличивается не только количество выпускаемых соков, их ассортимент, но и объем потребления. Высокая технологичность процессов получения соков обеспечивает возможность быстрого и эффективного внедрения достижений науки и техники в промышленность. В настоящее время существуют 3 основных способа производства фруктовых соков: прямого отжима (ГОСТ Р 52184-2003); концентрирование (ГОСТ Р 52185-2003) и восстановление (ГОСТ Р 52186-2003).

К сожалению, виноградные соки прямого отжима практически не вырабатывают. Виноград служит очень ценным сырьем для получения целого ряда пищевых продуктов благодаря высокому содержанию биологически активных веществ. При этом необходимо отметить, что натуральный виноградный сок среди пищевых продуктов, получаемых из виноградного сырья, занимает особое место. Он относится к категории напитков, не содержащих алкоголя, и является одним из важнейших и наиболее ценных в пищевом и диетическом отношении компонентом питания. Гиппократ ценил его лечебные свойства на уровне пчелиного меда. И в наше время как одна из отраслей фитотерапии (лечение растениями) все большую популярность завоевывает ампелотерапия (лечение виноградом и виноградным соком). Организм человека способен усваивать из виноградной ягоды сахар (глюкозу, фруктозу, сахарозу), органические кислоты (винную, яблочную, лимонную), дубильные и минеральные вещества, витамины и жизненно важные аминокислоты. Для достижения максимального сохранения в готовой продукции ценных компонентов винограда наиболее приоритетна технология производства соков методом прямого отжима,

позволяющая получать продукцию наивысшего качества (марочные соки) с максимальным сохранением не только биологической ценности сырья, но и индивидуального сортового аромата и уникальных органолептических свойств винограда определенного ампелографического сорта.

В России ведущий регион по выращиванию винограда — Краснодарский край. Ученые-виноградари края постоянно совершенствуют имеющуюся сырьевую базу. Сотрудники Анапской зональной опытной станции виноградарства и виноделия уделяют серьезное внимание вопросам селекции и выведению новых сортов винограда, обладающих не только высокими потребительскими свойствами, но и устойчивостью к филлоксере, грибным болезням и морозу. В связи с вышеизложенным, цель наших исследований — установление возможности получения виноградных соков высокого качества из новых сортов винограда селекции АЗОСВиВ. Для выработки экспериментальных образцов натуральных виноградных соков прямого отжима использовали 8 новых сортов: Кубанец, Меркурий, Достойный, Дионис, Памяти Зоткиной, Каберне АЗОС, Бархатный и Рислинг АЗОС. Кроме того, из классического сорта Каберне Совиньон получали сок прямого отжима из винограда, переработанного по-белому способу. Сахаристость полученных исходных образцов сусла находилась в пределах 17,8-22,7 г/100 см³, титруемая кислотность — 4,5-7,5 г/дм³, рН — 3,1-3,7 [15-18].

Основная задача при производстве виноградных соков прямого отжима состоит в получении прозрачного продукта, наиболее полно сохраняющего все органолептические и питательные свойства исходного свежего сока винограда, а также стабильность в течение достаточно продолжительного времени без изменения качества и состава. Достоинство прозрачных соков — это привлекательный внешний вид, устойчивость при хранении; возможность их концентрирования, не опасаясь желирования продукта. Однако при выработке этих соков, получаемых отжимом, в выжимках и осадках наряду с

балластными веществами теряются жирорастворимые витамины, часть макро и микроэлементов, аминокислот. Кроме того, частичная потеря ценных компонентов происходит также вследствие проведения технологических операций по осветлению и стабилизации продукции. В связи с этим мы вырабатывали сок по классической схеме, предусматривающей переработку винограда испытываемых сортов по-белому способу для белых сортов и с применением кратковременного настаивания для красных; сусло отбирали из расчета 60 дал из 1т винограда; осветляли его отстаиванием на холоде при 4-6°С в течение 20-24 ч; декантировали с осадка с последующей стабилизацией путем пастеризации при 82-85 °С в течение 2-2,5 мин и охлаждением сокоматериалов до 2°С, выдерживая при этой температуре 20 сут. Задача — практическая реализация такой схемы производства, при которой воздействие дополнительных технологических факторов на сырье было бы минимальным (за исключением применения ферментных препаратов избыточного воздействия высоких температур). В связи с этим для осветления отстаивал материалы на холоде с внесением суспензии бентонита из расчета 1 г/дм³. По полученным данным, эта операция вполне эффективна, и после фильтрации декантированного сока полученные образцы обладали достаточной прозрачностью. Исключение составил образец из сорта Бархатный: он имел высокую вязкость и плохо фильтровался. Для данного сорта, очевидно, необходимо использовать пектолитические ферментные препараты с целью обеспечения гидролиза молекул пектина и понижения вязкости. Для обеспечения стабилизации полученных сокоматериалов к забраживанию провели пастеризацию по указанным выше режимам. Известно, что качество виноградного сока лучше сохраняется при консервировании нетепловыми методами — обеспложивание фильтрованием, ультрафиолетовым облучением, замораживанием. Однако эти методы не нашли широкого применения. Тепловая обработка для подавления жизнедеятельности микроорганизмов и инактивации ферментов плодовоовощного сырья в целом оказывает отрицательное влияние на качество

продукции и ее биологическую ценность. Однако, известно, что высокие температуры, применяемые в течение короткого времени, не должны неблагоприятно отражаться на качестве сока. Ввиду этого мы оценивали степень влияния принятого варианта тепловой обработки, как ключевого технологического этапа, на изменение состава свободных аминокислот и витаминов в экспериментальных образцах соков.

Самое высокое содержание свободных аминокислот зафиксировано в соке из сортов Дионис Каберне Совиньон Достойные Каберне АЗОС наименьшее — Памяти Зоткиной Меркурии Рислинг итальянские причем половину общей суммы составляет пролин как и в винодельческой продукции. Индивидуальный же состав аминокислот в исследуемых соках обусловлен сортом винограда и применяемыми агротехническими приемами. При этом в целом можно отметить что общее содержание свободных аминокислот зависит от сорта винограда а их соотношение в пределах каждого сорта примерно одинаково. После кратковременной тепловой обработки было установлено значительное снижение общей концентрации аминокислот во всех анализируемых образцах (табл 1 содержание аминокислот до и после пастеризации) что свидетельствует о значительной интенсификации химических процессов протекающих с участием аминокислот под влиянием тепловой обработки. При этом установлено значительное снижение концентрации всех аминокислот за счет пастеризации за исключением аргинина на его концентрацию пастеризация повлияла незначительно, а в некоторых случаях вообще не оказала никакого влияния, что свидетельствует об определенной степени устойчивости аргинина к воздействию высоких температур. Таким образом, процесс пастеризации существенно изменяет концентрацию свободных аминокислот в виноградном соке и даже в результате кратковременной обработки наблюдается снижение общего содержания аминокислот более чем в 2 раза. Тем не менее, концентрация аминокислот после пастеризации составляет

более 1200 мг/дм³ что является достаточно высоким показателем сточки зрения биологической ценности продукта [19].

В исходном сусле идентифицированы аскорбиновая хлорогеновая и галловая кислоты. Содержание аскорбиновой кислоты в исходном сусле составляло от 3 до 4,6мг/дм³.

Аскорбиновая кислота играет важную роль в обеспечении нормального течения белкового углеводного и жирового обмена. Под ее действием органы обогащаются гликогеном в крови, повышается количество пировиноградной кислоты мелкодисперсных белков регулируется содержание полипептидов и холестерина. Витамин С оказывает влияние на иммунобиологические реакции организма стимулирует образование антител повышает фагоцитарную активность крови стимулирует внешнесекреторную функцию поджелудочной железы и фильтрационную способность почек. В результате пастеризации в образцах из сортов Достойный Меркурии и Рислинг итальянский зафиксировано снижение концентрации аскорбиновой кислоты. Разложение витамина С может протекать двумя путями: ферментативным и неферментативным. Ферменты, вызывающие расщепление под действием температуры, инактивируются, поэтому, несмотря на более быстрое вызванное ими разложение по сравнению с неферментативными процессами распада, значение ферментативного расщепления выше. Тепловое воздействие обусловлено рядом условий, поэтому совершенно одинаковая тепловая обработка в зависимости от присутствия различных сопровождающих веществ и существующих условий вызывает разложение витамина С в разной мере. С уменьшением рН в большей степени увеличивается разлагающее действие тепла на витамин С, чем, возможно, и объясняется более наглядное снижение концентрации аскорбиновой кислоты в образцах с более низким значением рН (Рислинг итальянский, Меркурий и Достойный). Оротовая кислота (Витамин В13) участвует в синтезе нуклеиновых кислот и тем самым стимулирует образование белка и процессы роста,

повышает сократительную функцию миокарда. В исследованных соках ее содержание до процесса пастеризации составляло от 0,1 до 3,4 мг/дм³. Однако, после тепловой обработки ее концентрация в соках значительно снизилась, а в некоторых образцах она практически полностью исчезла. Данный факт свидетельствует о том, что оротовая кислота разлагается даже вследствие кратковременной тепловой обработки. Похожая картина наблюдается и для кофейной кислоты: до термической обработки ее содержание в соках составляло от 2,9 до 9,5 мг/дм³, однако после пастеризации оно значительно снизилось (в некоторых образцах практически до нуля). Хлорогеновая кислота и сложные эфиры фенола служат предшественниками лигнина и других полифенолов, препятствующих разрушению клеточных стенок [20]. Хлорогеновая кислота относится к более устойчивым соединениям, и ее концентрация вследствие тепловой обработки не изменилась или снизилась незначительно. Такая же картина наблюдалась и для галловой кислоты, которая, как представитель фенольных веществ, обладает Р-витаминной активностью и антимикробными свойствами. Изменение концентрации никотиновой кислоты под воздействием пастеризации носило неоднозначный характер: в некоторых образцах ее содержание не изменялось, в некоторых уменьшилось незначительно или сократилось в несколько раз. Известно, что никотиновая кислота, обладающая выраженной специфичностью при лечении и предупреждении особого заболевания — пеллагры (нарушение общего состояния организма, расстройство со стороны кишечника, кожные изменения и нарушение психики), устойчива во внешней среде и выдерживает нагревание и продолжительное хранение без разрушения и снижения своей активности, хорошо сохраняется при консервировании. Поэтому в данном случае изменения в концентрации никотиновой кислоты объясняются, очевидно, не воздействием высоких температур, а другими факторами, не связанными только с тепловыми процессами. В целом из всех анализируемых образцов наиболее богаты витаминами и витамином о

подобными веществами соки из сортов Дионис, Каберне Совиньон, Кубанец, Достойный, Рислинг Итальянский и Рислинг АЗОС, меньше всего — из сортов Меркурий и Бархатный.

Все полученные образцы пастеризованных соков из новых сортов винограда селекции АЗОСВиВ удовлетворяли требованиям ГОСТ Р 52184-2003 табл. 3), при этом они различались по количеству титруемых кислот, сахаров и сухих веществ. Для оценки вкусовых характеристик полученной продукции применили 25-балльную систему органолептической оценки соков [21]. Представленные I образцы виноградных пастеризованных соков прямого отжима, полученные из белых сортов винограда, обладали высокими органолептическими показателями (20-21 балл), соломенной окраской с зеленоватым оттенком, выраженными сортовыми тонами в аромате и вкусе, умеренной кислотностью и сахаристостью. Сок из сорта Каберне Совиньон, переработанного по-белому, имел розовую окраску с оттенком семги. В аромате присутствовали тона свежего винограда. Вкус мягкий, гармоничный, глицеринистый, с умеренной сахаристостью и кислотностью, в после вкусе кизилловые оттенки. Все представленные образцы виноградных пастеризованных соков прямого отжима, полученные из окрашенных сортов винограда с настаиванием сула на мезге, также обладали высокими органолептическими показателями (19,0-23,0 балла). Для них характерна окраска от розовой до янтарной со спектром дополнительных оттенков от малинового до коричневого. Образцы этой группы отличались богатым ароматом, с выраженными сухо-фруктовыми, черносливыми и изумленными тонами, обладали полным, экстрактивным и гармоничным вкусом.

Из анализируемых новых сортов винограда наиболее высоким запасом свободных аминокислот обладали соки из сортов Дионис, Каберне Совиньон, Достойный, Памяти Зоткиной; витаминов — Дионис, Каберне Совиньон, Кубанец, Достойный, Рислинг АЗОС и Рислинг Итальянских [22].

В результате даже кратковременной пастеризации наблюдалось значительное снижение биологической ценности готовой продукции. Все изученные новые сорта винограда могут быть использованы для производства высококачественных виноградных соков. Учитывая совокупность данных органолептического и химического анализа экспериментальных образцов, для производства марочных соков с высоким уровнем биологической ценности могут быть рекомендованы сорта Кубанец, Дионис и Достойный.

1.4. Дисперсность сухого красного вина. Действие электролитов на коллоидную систему частиц в вине обычно связано с потерей его устойчивости. То же можно сказать и в отношении температурного воздействия). Ранее изучение действия температуры на сухое красное виноградное вино и показали, что в малых концентрациях электролита HCl основные изменения в вине происходят при температурном воздействии [23,24]. Приведены данные изменения дисперсности вина, подвергнутого длительному температурному действию при повышенном по сравнению с предыдущими исследованиями содержании электролита HCl.

Для приведенного случая выдержки вина при 43°C и содержания электролита 0 (контроль) и 3 мл величины l и Z соответственно равны: $n=2,43$ и $n=2,28$ или $l=1$ и $Z=8$. При этом радиусы частиц в контроле 251 нм, а при содержании электролита 270 нм. Полученный радиус следует умножить на величину показателя преломления среды, то есть 1,33.

Аналогичным образом определяли радиусы частиц при другой температуре и разном содержании электролита. Наиболее вероятный радиус частиц с увеличением температуры вначале возрастает и при температуре более 30°C снижается (рис. 2). Эта зависимость прослеживается как для контроля, так и для образца, содержащего электролит. Рост радиуса частиц можно объяснить протекающими процессами коагуляции частиц, которые

интенсифицируются с повышением температуры и еще более обостряются при наличии электролита. Снижение радиуса частиц как в контроле, так и в опыте можно связать с тем, что при высокой интенсивности коагуляции при 43 и 55°C образуется осадок в вине, то есть крупные частицы седиментируют, а оставшиеся имеют незначительный радиус частиц.

Таким образом, можно утверждать, что развитая коллоидная система в исследуемом вине поддается воздействию температуры [25-28] электролитов.

1.5. Криомацерация при производстве вин. Мацерация винограда (растворение веществ, находящихся в твердых частях виноградных ягод) предназначена для экстрагирования из ягод ароматических, красящих и дубильных веществ, формирующих букет, и улучшения вкусовых качеств будущего вина.

При мацерации белого винограда могут накапливаться нежелательные танины и изменяться окраска вина. Этого можно избежать, применяя криомацерацию, то есть холодную мацерацию. Он способствует растворению ароматических составляющих путем выдержки на мезге при температуре ниже 8 °С в течение 12-24 ч за счет их значительной диффузии из кожицы в сусло. При этом активность окислительных ферментов и растворимость полифенолов весьма ограничены [29].

Использование криомацерации позволяет ограничить экстрагирование из ягод веществ, участвующих в нежелательных окислительных процессах, но в то же время обеспечить растворение ароматических составляющих. При этом поступающая из валковой дробилки мезга быстро охлаждается до 5-8°C и выдерживается при такой температуре от 12 до 24 ч в зависимости от сорта винограда, степени его физиологической зрелости и поражения гнилью.

Полученное холодное сусло осветляют бентонитом и другими веществами, фильтруют и направляют на брожение при контролируемой температуре около 16-18°C на чистой культуре дрожжей.

Температура и активность ферментов при криомацерации. Одна из проблем при мацерации — активность двух ферментов, участвующих в окислении полифенолов сусла кислородом воздуха: тирозиназа присутствует в любом винограде и окисляет в основном катехины, а лакказа находится в винограде, пораженном грибом *Botrytis cinerea*, и взаимодействует с большим числом фенольных соединений. Окисляющее действие лакказы — основная причина возникновения окислительного вкуса.

Остановить окислительные процессы можно двумя способами: за счет сульфитации сусла, его охлаждения и осветления (классический метод) или криомацерации и охлаждения мезги.

Действительно, наблюдая за активностью ферментов при изменении температуры, можно отметить, что максимальная активность тирозиназы достигается примерно при 30°C, а лакказы — при 40-50°C. При снижении температуры их активность постепенно уменьшается и прекращается при температуре ниже 8°C. В этом случае оба фермента не потребляют кислород и процесс окисления не наблюдается (даже без применения сернистого ангидрида) [30].

При сокращении продолжительности процесса мацерации во избежание излишнего поступления полифенолов из кожицы в сусло важное значение имеет температура. Ее уменьшение до 8 °C и ниже приводит к снижению способности растворять фенольные соединения до минимума, тогда как экстрагирование ароматических веществ жидкой средой из твердых частиц будет максимальным. При сравнении результатов, полученных в традиционном процессе мацерации, и при мацерации, проведенной при 5°C, можно наблюдать совершенно разные тенденции для базовых параметров: накопление полифенолов, экстрагирование ароматических веществ, активность ферментов [31,32].

Содержание полифенолов является максимальным (и избыточным) при традиционной мацерации и снижено втрое при холодной мацерации и процессе изготовления белого вина из сусла-самотека с контролируемой температурой брожения. В последнем случае достигнуто минимальное содержание лейкоантоцианов при криомацерации оно достаточно низкое, а при традиционной мацерации достигает опасного уровня.

Аромат вина усиливался при холодной обработке мезги (первичные ароматы) и последующем низкотемпературном брожении (увеличение содержания летучих сложных эфиров).

Вино, полученное из винограда с использованием криомацерации, имеет характеристики стабильности, сходные с показателями вина, приготовленного брожением сусла без настоя на мезге при 16°C, но отличается более сильным ароматом. Получены значительно лучшие характеристики стабильности вкусовых качеств вина по сравнению с традиционной мацерацией без охлаждения. Используемый при криомацерации горизонтальный ротационный винификатор типа Aromatic фирмы Diemme предназначен для мацерации красного винограда и углекислотной мацерации с охлаждением (криомацерация) белого винограда.

При простоте эксплуатации установка обеспечивает полную криомацерацию при заданной температуре за счет медленного и программируемого вращения цилиндрической емкости, снабженной охлаждающей рубашкой.

Процесс мацерации заключается в быстром охлаждении поступающей из дробилки-гребнеотделителя мезги до 5 °C с помощью трубчатого теплообменника. Для некоторых сортов винограда с низким содержанием полифенолов температуру можно повысить до 8-10°C, что увеличит экстрагирование ароматических веществ.

В процессе холодной мацерации содержащиеся в кожце ароматические вещества растворяются и окислительная активность ферментов блокируется.

В любом случае не рекомендуется превышать длительность мацерации 15-20 ч (для получения белого вина) и 24-30 ч (для красного винограда) во избежание избыточного растворения полифенольных составляющих.

В конце этапа криомацерации после остановки машины сливают сусло через нижний клапан, а стекшую мезгу направляют на прессование. В этом случае идеальным является применение мембранного пресса Diemme сусло, полученное при давлении до 0,6 бар, можно считать самотеком, и только незначительная часть общего количества уйдет в прессовые фракции.

Холодную мацерацию мезги можно использовать для производства розовых вин, которым необходимы особенно сильные показатели свежести, аромата и букета. Винификатор Aromatic полностью удовлетворяет этим требованиям. Процесс аналогичен переработке белого винограда, но время мацерации возрастает до 30 ч, что обеспечивает растворение большего количества антоцианов.

Применение криомацерации на горизонтальном ротационном винификаторе Aromatic придаст полученному продукту — будь то белое или розовое вино, высокую стабильность к окислению, более ярко выраженные типичные особенности винограда и более тонкий аромат, который будет превосходить по интенсивности и гармоничности вино, полученное по традиционной технологии.

Винификатор Fromatic используется для максимального использования феномена мацерации винограда [33-35].

Компания «Милеста» является эксклюзивным представителем итальянских фирм Diemme и в странах ближнего зарубежья. Она занимается

поставками оборудования для винодельческой промышленности, проектированием новых и реконструкцией старых предприятий.

1.6. Новый препарат для осветления натуральных виноматериалов.

Использование дубового экстракта, полученного путем водно-спиртовой экстракции древесины дуба, в производстве натуральных вин, в том числе и для осветления, оказывают положительное влияние на их качество [36-40]. При этом, обработка белых, красных сухих вин и шампанских виноматериалов с использованием дубового экстракта взамен танина или бентонита в сочетании с желатином или рыбьим клеем наряду с обработками бентонитом, танином с желатином или танином и рыбьим клеем придают виноматериалам способность осветляться до полной прозрачности и быть розлива стойкими. Проведенные исследования выявили возможность и целесообразность замены бентонита и танина в производстве вин дубовым экстрактом.

Использование дубового экстракта при обработках по осветлению и стабилизации виноматериалов значительно снижает их потери по сравнению с обработкой бентонитом и оказывает заметное положительное влияние на качество вина. Обработка бентонитом снижает содержание высокомолекулярных компонентов, что обедняет состав вина и повышает в нем содержание кальция.

Добавление дубового экстракта повышает содержание ароматобразующих веществ вина, придает ему тона выдержки.

1.7. Ферментация сусла и мезги. Первой стадией технологического процесса переработки винограда является разрушение ягоды с помощью механического (дробилки), термического или иного воздействия на виноград.

Химический состав сока виноградной ягоды отличается от химического состава сусла тем, что в процессе переработки винограда в сусло переходят вещества из мякоти, кожицы, семян, а в некоторых случаях

и из гребней; к суслу получает доступ кислород воздуха и происходят биохимические (ферментативный) изменения веществ сусла до начала брожения. Акад. А. И. Опарин [41] предложил эту стадию в виноделии называть стадией ферментации.

Известные в настоящее время ферментативные реакции в сусле можно подразделить на гидролитические и окислительно-восстановительные. Окислительные процессы происходят под действием полифенолоксидазы, пероксидазы, аскорбиноксидазы, оксидазы диоксималеиновой кислоты, флавопротеиновых оксидаз, дегидрогеназ органических кислот и других. Полифенолоксидаза, играющая первостепенную роль при окислении сусла, адсорбирована на твердых частях ягоды. Окисление полифенолов дубильных и красящих веществ свободным кислородом происходит в основном при соприкосновении сусла с мезгой. Замедление процессов окисления сусла достигается уменьшением аэрации, быстрым отделением от мезги, тщательным осветлением сусла, внесением антиоксидантов, инактивацией полифенолоксидазы (нагревом выше 60°C или адсорбцией ее при обработке бентонитом) и т.д.

Полифенолы под действием полифенолоксидазы окисляются до хинонов. Имеющаяся в сусле аскорбиновая кислота восстанавливает хиноны вновь до полифенолов. После окисления всей аскорбиновой кислоты в сусле накапливается некоторое количество хинонов, которые могут окисляться дальше и давать продукты конденсации, имеющие буровато-коричневую окраску. При этом, сусло буреет при последующем сбразивании дает вино пониженного качества. Введение в сусло сернистого ангидрида может предотвратить этот процесс. Сернистый ангидрид необходимо вводить как можно раньше в сусло или мезгу. Раствор SO₂ может задаваться еще в виноград до дробления.

В первую очередь окислению подвергаются дубильные и красящие вещества, в результате этого окислительно-восстановительный потенциал

среды [42-45], повышается с 283 до 388мв через несколько часов пребывания мезги на воздухе.

В процессе настаивания на мезге дубильные вещества переходят в сусло. Обогащение сусла происходит до определенного периода – в течение 20 ч [46].

При раздавливании или разрушения клеток кожицы виноградной ягоды меняется направленность ферментативных процессов в ней. В целой ягоде процессы синтеза преобладают над процессами распада. С разрушением ягоды начинается усиление гидролизного действия ферментов, которое достигает максимума через определенное время, синтезирующая способность при этом падает. В связи с такой декомпенсацией ферментного аппарата ягоды происходят значительные изменения в количестве и составе полифенолов, частичное расщепление дубильных веществ, усиленная деградация запасных и сложных плазменных белков с образованием водорастворимых протеинов, полипептидов и аминокислот, изменение количества пектиновых и других веществ. Следовательно, чем сильнее будет степень дробления ягод винограда, тем более полно будет идти ферментация мезги. Для виноделия по красному способу необходимо стремиться к сильному дроблению мезги. И, наоборот, если мы хотим получить неферментированное сусло, то необходимо ограничивать степень дробления мезги и время переработки. Идеальным в этом случае будет прессование винограда целыми гроздьями. Пектин виноградной ягоды под действием ферментов пектинэстеразы и полигалактуроназы расщепляются на легкорастворимую моногалактуроновую кислоту, метиловый спирт и другие продукты.

Наибольшее количества пектиновых веществ локализовано в кожице винограда. Под действием пектолитических ферментов они переходят в сусло и происходит их разрушение. В результате этого облегчается процесс прессования, увеличивается и ускоряется сокоотдача. Для прохождения

процессов ферментации требуется одно, двухсуточный настой на мезге и обеспечивает нормальное прохождение ферментации.

Для ускорения процессов ферментации можно добавлять гребни или мезгу, предварительно ферментированные [47], или вносить пектолитические ферментные препараты, полученные из различных продуцентов. Пектолитические ферментные препараты в числе других ферментов содержат пектинэстеразу и полигалактураназу, которые расщепляют пектин виноградного суслу на легкорастворимую моногалактурановую кислоту и другие соединения.

Вязкость сока вследствие расщепления пектина уменьшается и улучшается фильтрационная способность.

По обширным литературным данным, общее увеличение выхода суслу в результате действия пектолитических ферментных препаратов составляет от 2 до 15%. По данным ВНИИВиВ “МАГАРАЧ”, общий выход суслу увеличивается в среднем на 2-3%, а количество суслу-самотека повышается на 10-15% вследствие уменьшения прессовых фракций [48].

Скорость фильтрации суслу при действии пектолитических ферментных препаратов на мезгу в течение 16-18 ч возрастает в 6-8 раз. При ферментации мезги увеличивается содержание в сусле эфирных масел, азотистых, дубильных и красящих веществ. Вина, полученные из мезги, обработанной пектолитическими препаратами, в молодом возрасте, как правило, выше по качеству, чем вина контрольные.

При выдержке такие вина созревают значительно быстрее, приобретая иногда палевые тона в окраске. Мускатный аромат снижается.

Таким образом, обработка мезги пектолитическими ферментными препаратами улучшает процесс отделения и осветления суслу. Но в дальнейшем приводит к усилению процессов окисления в молодом вине.

Поэтому молодые виноматериалы должны подвергаться соответствующим обработкам, чтобы снять это последствие пектолитических ферментов.

Обработка виноградного сусла препаратом пектолитического фермента из плесени *Aspergillus niger* не оказывает существенного влияния на состояние дрожжей и ход брожения [49]. Более заметное влияние на энергию брожения оказывает степень осветленности сусла. Вследствие обработки ферментным препаратом сусло хорошо осветляется и брожение протекает более плавно, без сильного вспенивания, температура поднимается менее высоко, что особенно важно при сбраживании в крупных емкостях.

1.8. Ферменты, применяемые в виноделии. Препарат вносится в приемный бункер на виноград или в мезгу при дроблении, или в ферментатор в виде тщательно размешанной суспензии, приготовленной на сусле. Время контакта мезги с препаратом рекомендуется не менее 1,5-2 ч.

Точное дозирование и равномерная подача суспензии ферментного препарата могут быть обеспечены специальными дозаторами, суспензия вносится вручную.

При выборе необходимой дозы препарата для данного района и определенной группы сортов винограда следует предварительно проводить пробную обработку в условиях лаборатории.

Доза вносимых пектолитических ферментных препаратов колеблется в зависимости от районов произрастания и сортов винограда, условий года, технологии переработки. При длительном контакте сусла с мезгой (24 ч и более) следует выбирать минимальные дозы-0,017%, в некоторых случаях даже 0,0018 препарата активностью 3000ед/г.

Некоторые сорта, особенно со слизистой мякотью (Ноа, Изабелла, Лидия в Молдавии и Закарпатье), трудно отдающие сок, требуют повышенных доз препарата (0,07-0,08%). При переработке белых сортов винограда для получения шампанских и столовых виноматериалов

оптимальной нужно считать дозу 0,033-0,04% (дозы приведены для препарата активностью 3000ед/г).

Для удобства расчета в табл.1 приводятся дозы препарата в зависимости от его активности [50]. Из табл. видно, что при активности препарата 5000ед/г дозы колеблются в пределах 0,01-0,05% к весу винограда; при активности 1000ед/г - соответственно 0,05-0,25% и т. д.

Температурный оптимум действия пектолитических ферментных препаратов 37-40°C. Однако специально подогревать мезгу в процессе ферментации, если этого не требует принятая для данного типа вина и при температурах 15-20°C. При использовании пектолитических ферментных препаратов рекомендуется доза сульфитации 100-150 мг/дм³ сусла.

Активности пектолитических ферментных препаратов. Таблица. 1

Препарат активностью, ед / г	Дозы, % к весу винограда				
	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05
5000	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05
4000	0,0125	0,025	0,037	0,05	0,062
3000	0,017	0,033	0,05	0,07	0,08
2000	0,025	0,05	0,075	0,1	0,125
1000	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25

Протеолитические ферментные препараты. При ферментации сусла и мезги происходит разрушение белка и полипептидов винограда. Эти процессы протекают под действием различных природных протеолитических ферментов. В результате этого содержание растворимых протеинов винограда снижается в несколько раз. Процесс естественного протеолиза,

проходящие при ферментации сусла и мезги, можно ускорить, внося протеолитические препараты, которые получают из плесеней *Aspergillus oryzae*, *A. Flavus*, *A. awamori*.

Винодельческая промышленность фактически не имеет опыта по применению протеолитических ферментных препаратов, проводились лишь отдельные испытания на случайных препаратах, но перспективы по применению протеолитических ферментных препаратов в виноделии очень большие.

Протеолитический ферментный препарат вносился в сусло в количестве 0,0005% после сульфитации из расчета 100мг/дм³. После отстоя сусло снималось с осадка и сбразживалось. Содержание белка в полученных виноматериалах было незначительным, что увеличивало их стабильность [51]. Необходимо шире развернуть исследования в этой области, с тем, чтобы отработать технологию применения протеолитических ферментных препаратов в виноделии.

ГЛАВА II. МЕТОДЫ АНАЛИЗА ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СУСЛА.

2.1. Описание объекта исследования. Происхождение отстойного осадка в сусле. Отстойный осадок состоит из частиц земли, обрывков тканей гребней и кожицы, наконец, из протеинов, осаждающихся при контакте с веществами, локализованными в различных местах виноградной ягоды. Когда рассматривают осадок, образовавшийся на дне бутылки с сусликом, стабилизированным антисептиком, то нетрудно заметить, что он состоит из последовательно расположенных гетерогенных слоев, имеющих различную окраску. Кроме того, после осаждения взвешенных частиц в сусле сразу же после его отделения наблюдают флокуляцию новых частиц, которые постепенно опускаются на дно. Детальное исследование физического и химического строения отстойного осадка еще предстоит выполнить; оно позволило бы уточнить значение и полезность осветления.

Содержание и природа мути зависят от винограда, степени его зрелости и наличия плесени. Загнивший виноград дает больше отстойных осадков; они окрашены в бурый цвет, тогда как у здорового винограда муть имеет серо-зеленую окраску. Способ переработки винограда является другим важным фактором, определяющим количество отстоя. При прессовании без дробления мути образуется мало, но она тоньше, медленно осаждается, и сусло остается немного мутным. При дроблении с последующим извлечением сока с помощью механического стекателя получается грубая фракция осадка — муть, которая быстро осаждается, образуя толстый рыхлый слой, тогда как сусло становится прозрачным. Обильная муть в соках, получаемых при помощи центробежных дробилок-гребнеотделителей, иногда разделяется на две равнозначные фазы; одна опускается на дно резервуара, другая же, препятствующая осветлению суслика, плавает на поверхности. Проводили наблюдения при переработке винограда в

промышленных условиях (район Бордо, сорта Совиньон, Семильон, Уньи Блан с большим или меньшим количеством плесени). Ниже приведена высота слоя осадка (в %), образовавшегося за 24 ч осаждения, по отношению к высоте сусла. Дробилка с рифлеными валками (без отделения гребней), сусло-самотек от 22 до 45. Дробилка-гребнеотделитель центробежного типа, сусло-самотек от 80 до 100. Прессование без дробления, сусло 1-го и 2-го давления 10. Из этого примера ясно видно, что эффективность осветления даже на пределе его осуществления зависит от количества осадка-мути, находящегося в сусле, а также от природы этого осадка, в частности от размеров его частиц. По этому вопросу Креттенан и сотрудники провели исследование. Эти авторы подтверждают большие различия в количестве осадка мути в сусле в зависимости от характера оборудования, применяемого для стекания и прессования мезги. В частности, этот осадок мути измеряли и выражали в процентах от общего объема сусла после осаждения. Результаты, полученные авторами, показали, что шнековый стекатель даже при малой частоте вращения дает наиболее мутное сусло, по всей вероятности, потому, что муть, образующаяся во время дробления, не фильтруется через выжимки, как это происходит в вертикальных или горизонтальных прессах. Не существует прямой зависимости между объемом осадка мути, образовавшимся за 24 ч, действительной массой твердых частиц, собранных при фильтрации; другими словами, в ротационном стекателе образуется больше мути потому, что эти частицы плохо уплотняются при осаждении и, вероятно, эта особенность вытекает из их структуры. Осадок мути, образованный в различных типах прессов и ротационных стекателях [52] приводятся в таблице 2. Такие же различия в объеме отстойного осадка обнаруживаются при попытках собрать его в лабораторных условиях посредством центрифугирования. Отстойный осадок сусла, полученного на ротационном стекателе, меньше концентрируется в фугате, чем осадок сусла, отжатого на горизонтальных или вертикальных прессах. Соки из пресса непрерывного действия обычно дают при осаждении отстаиванием остаток

мутименьший по объему, чем соки из стекателя, но масса твердых частей, собранных при фильтровании, явно больше. Из всего этого видна сложность данного вопроса, который заслуживал бы детального исследования, учитывая его значение.

Осадок мути прессов и ротационных стекателей.

Таблица. 2

Система оборудования	Количество собранного отстойного осадка (в %)				Осадок мути (осаждение за 24 ч), %
	фильтрованием		Центрифугированием		
	свежего	сухого	свежего	Сухого	
1	2	3	4	5	6
Пресс					
вертикальный					
гидравлический	0,84	0,32	1,52	0,46	6
горизонтальный					
гидравлический	0,63	0,33	1,50	0,43	6
горизонтальный винтовой	0,90	0,35	2,65	0,66	9
горизонтальный с центральным отбором сула	1,23	0,57	3,26	0,85	18
горизонтальный пневматический	0,65	0,34	2,80	0,78	7
Стекатель ротационный Малооборотный	1,35	0,45	5,38	1,00	От 17 до 72
Пресс непрерывного действия	4,13	1,11	4,13	1,20	39

Было бы полезно узнать физико-химическую структуру различных видов отстойного осадка в зависимости от условий извлечения сусла для того, чтобы можно было истолковать влияние его на органолептические характеристики, а также иметь возможность определять наилучшие условия удаления его из сусла.

Общепризнано, что все операции, связанные с перемешиванием винограда, способствуют образованию мути: перемещение винограда шнековым транспортером, дробление, перекачка, стекание в стекателях динамического типа, прессование. Следовательно, чем больше будет различных операций с резким механическим воздействием на виноград, чем дольше будет длиться перевозка винограда, особенно в дробленном виде, тем более обильным будет осадок. При дроблении и перемешивании выжимки в горизонтальных прессах с цепями также образуется значительное количество мути. Сусло полученное из сортосмеси белых и красных сортов винограда, неосветленное, имел следующие физико-химические показатели:

Сахар, г/100см ³	17
Титруемая кислотность, г/дм ³	6,4
Летучая кислотность, г/дм ³	0,5
Сернистая кислота, г/дм ³	
Общая,	до 200
Свободная	до 20

2.2. Методы анализа. Для контроля за ходом технологического процесса и определения показателей качества вин применяют различные методы анализа:

2.2.1. Объемная доля этилового спирта [53], %; массовая концентрация сахара в пересчете на инвертный, г/100 см³; массовая концентрация титруемых кислот в пересчете на винную, г/дм³; массовая концентрация приведенного экстракта, г/дм³; давление в бутылках для вин, насыщенных СО₂, кПа; органолептические показатели, баллы: прозрачность, цвет, букет, вкус, типичность (или для вин, насыщенных СО₂, - игристые и пенистые свойства); показатели, характеризующие гигиенические свойства вин: массовая концентрация летучих кислот в пересчете на уксусную, г/дм³; массовая концентрация диоксида серы (общей и свободной), мг/дм³;

2.2.2. Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли по методу Е.Е Дубининой и соавт. [22/54]. к 0,1 мл суспензии микросом добавляли 0,1 мл инкубационной смеси, содержащей 1 мкМ ЭДТА, 1 мг желатина, 0,407 мМ нитросинего тетразолия, 1,8 мкМ фенозинмета сульфата. Объем доводили до 3,0 мл фосфатным буфером (0,15 М), рН 7,8. Инкубацию осуществляли 10 мин в темноте при комнатной температуре. Через 10 мин добавляли 0,1 мл 1 мМ НАДН и измеряли оптическую плотность на СФ-46 при длине волны 540 нм против смеси, содержащей все компоненты, кроме НАДН. Активность СОД рассчитывали по формуле:

$$A = \frac{E * 18.5}{V * t * m}$$

и выражали в УЕ/мг белка за 1 мин, где E-оптическая плотность выраженная в УЕ, 18,5 – расчетный коэффициент торможения 50% активности СОД в 1 мл суспензии микросом за t - 10 мин инкубации, m – микросомальный белок-мг/л, V-объем микросом (0,1мл).

2.2.3. Активность каталазы (КТ), определяли по методу М.А Королюка и соавт [55]. Реакцию запускали добавлением к 0,1 мл суспензии микросом 2,0 мл 0,03% раствора Н₂О₂. В холостую пробу вместо суспензии микросом вносили равное количество дистиллированной воды. Реакцию останавливали через 10 мин добавлением 1,0 мл 4% молибдата аммония. Интенсивность

развившейся окраски измеряли на СФ-46 при длине волны 410 нм против контроля. Активность каталазы суспензии микросом рассчитывали по формуле:

$$A = \frac{(E_{хол} - E_{оп})}{V * t * k * m}$$

Где: А-активность каталазы (мкат/л), E_{хол} и E_{оп}-экстинкция холостой и опытной проб, V-объем суспензии микросом 0,1 мл, t-время инкубации 10 мин, К-коэффициент миллимолярной экстинкции H₂O₂, равный 22,2•10³ мМ⁻¹•см⁻¹; m-микросомальный белок-мг/мл.

2.2.4. Пероксидаза. Пероксидазную определения активность по способности пероксидазы окислять ортофенилендиамин в присутствии перекиси водорода при рН 5,0 и изменять окраску смеси от бесцветного до различной интенсивности желто-коричневого цвета в зависимости от количества функционально активного фермента. Первый планшет используется для определения активности пероксидазной системы, второй планшет для определения свободнорадикальной активности [56]. В лунки первого и второго плоскодонных 96-ти луночных планшетов вносили по 100 мкл исследуемой биологической жидкости (желательно в дублях), в одну лунку вместо биологической жидкости наливают 100 мкл физиологического раствора (контрольная лунка для определения фона реакции), затем во все используемые лунки первого планшета добавляют по 100 мкл субстратной смеси для пероксидазы, которая состоит из раствора хромогена (2 мг ортофенилендиамина, растворенного в 10 мл цитратно-фосфатного буфера, рН 5,0), и перекиси водорода (конечная концентрация 0,02%), в лунки второго планшета добавляют по 100 мкл раствора хромогена, который не содержит перекись водорода (2 мг. ортофенилендиамина, растворенного в 10 мл цитратно-фосфатного буфера, рН 5,0), и через 5-10 мин в зависимости от интенсивности окрашивания субстратной смеси в лунках первого планшета и раствора хромогена в лунках второго планшета при сравнении с

соответствующими контрольными лунками останавливают реакцию во всех лунках, добавляя по 50 мкл 10% ной серной кислоты, и измеряют интенсивность окраски на планшетном фотометре при длине волны 492нм.

Полученные результаты выражают в условных единицах, рассчитанных по формуле:

$$\text{ПОА}=[(\text{ОПо1}-\text{ОПк1})-(\text{ОПо2}-\text{ОПк2})]\times 1000 \text{ (y.e.)},$$

Где ПОА-пероксидазная активность в исследуемой биологической жидкости;

ОПо1-оптическая плотность в лунке с исследуемой биологической жидкостью в первом планшете;

ОПо2-оптическая плотность в лунке с исследуемой биологической жидкостью во втором планшете;

ОПк1-оптическая плотность в контрольной лунке первого планшете;

ОПк2-оптическая плотность в контрольной лунке второго планшета;

1000-произвольный коэффициент перерасчета для пероксидазы.

2.2.5. Протеиназа. Активность протеиназ в исследуемых винах, определяли по расщеплению хромогенного пептидного субстрата Z-D-Ala-Leu-Arg-pNa [57]. Для этого, в пробирки содержащие 2,5мл 0,05 М трис-НСl (рН 8,0) добавляли по 50мкл аликвоты вина и 50мкл субстрата. Инкубационную смесь помещали в термостат и выдерживали в течении 1 часа при 37°C. Реакцию останавливали добавлением 200 мкл 50% уксусной кислоты, отмечая длительность протекания реакции с момента добавления аликвоты до остановки реакции уксусной кислотой. Затем измеряли поглощение растворов при длине волны 410 нм в опытных пробирках против соответствующего контроля.

Протеиназную активность определяли по формуле $A = D_{410} \times 0,37 \times 1000/t \times V$, где D_{410} -разность поглощения между опытом и контролем, V -объем аликвоты, t -время реакции в мин, $0,37$ -коэффициент экстинкции паранитроанилин и объема инкубированной смеси.

Активность химотрипсиноподобной протеиназной активности вина по субстрату Glp-Ala-Ala-Leu-pNa [58].

2.3. Постановка эксперимента. В подготовленный для отстаивания резервуар вначале должно быть задано сульфитированное сусло в количестве, которое обеспечило бы необходимое содержание SO_2 после заполнения емкости резервуара на 90%. После этого из суслосборника сусло насосом подается через трубчатый теплообменник из нержавеющей стали в отстойный резервуар через кран (или верхний люк).

После того как отстойный резервуар будет наполнен на 90% емкости, необходимо для перемешивания еще в течение 30 мин перекачивать сусло, отбирая его через нижний кран и подавая в тот же резервуар через верхний кран для равномерного распределения SO_2 во всей массе сусла.

Если сульфитирование производится в потоке при перекачивании сусла из суслосборников для отстаивания с помощью сульфодозирующего аппарата, то перемешивание не требуется.

Отстаивание продолжается 14-16 ч, после чего осветленное сусло перекачивается в бродильный резервуар, откуда отбирается проба для анализа на сахар и титруемую кислотность, результаты записываются в паспорт брожения. При этом рабочий должен наблюдать по стеклянному отрезку трубы, вмонтированной во всасывающий шланг в месте подключения его к крану, за степенью осветления сусла и отбирать только осветленное сусло, оставляя в отстойном резервуаре гущу.

Гуща после отстаивания обычно составляет около 15-25% от взятого сусла в зависимости от сорта винограда. При применении центрабежной

дробилки-гребнеотделителя ЦДГ-20 этот процент может быть выше. Гущевые осадки сусла группируются в одной емкости и сбрасываются.

Для получения ординарных виноматериалов сусло отстаивается без охлаждения при сульфитации 100-150 мг/дм³. Время отстаивания 18-24 ч. Многочисленные попытки заменить отстаивание сусла фильтрованием или центрифугированием его пока положительных результатов не дали.

Время отстаивания сусла.

Таблица. 3

Направление технологии	Температура °С при отстаивании,	Время отстаивания, ч	Применяемая доза SO ₂ мг/дм ³
Шампанский и марочные белые виноматериалы	10	14-16	50-75
Белые столовые ординарные	Не регулируется	18-24	100-150

При наличии достаточного количества искусственного холода на заводе сусло для ординарных вин отстаивается также при охлаждении до 10°C.

Вино из хорошо отстоявшегося сусла, как правило, имеет хорошо развитый аромат, гармоничный вкус, лучшую прозрачность, повышенную стабильность.

Опытный образец осветления проводили на итальянской линии [59] агрофирмы «Мехнат». Здесь осветление проводится в потоке за 4 часа. Перед подачей на осветление в сусло через дозатор-смеситель задается расчетное

количество бентонита, желатина, инертного газа. Барботирование инертным газом длится 4 часа.

ГЛАВА 3. СОВРЕМЕННАЯ ТЕОРИЯ ОСВЕТЛЕНИЯ

3.1. Результаты эксперимента. Определяющей технологической операцией при изготовлении белых столовых вин является отстаивание виноградного сусла. При предварительном отстаивании удаляются из сусла мусть и взвешенные частицы тканей виноградной ягоды, отрицательно влияющие на вкусовые качества вина.

Хорошее осветление сусла перед брожением является одним из важнейших технологических приемов, влияющих на повышение качества белых столовых вин и шампанских виноматериалов.

Для нормального прохождения отстаивания требуется определенное время, в течение которого может произойти самопроизвольное забраживание сусла, процесс отстаивания будет нарушен.

Для предупреждения забраживания сусла при отстаивании необходимо снижать температуру сусла до 10°C или добавлять консервант - сернистый ангидрид. Отстаивание сусла должно производиться в специальных резервуарах или чанах. Емкость отстойного резервуара принимается из расчета заполнения его суслом за 2-3 ч. Больше время заполнения нежелательно.

Для различных сортов винограда, идущих на переработку, режим отстаивания должен быть разным. Так, сусло из высококачественных сортов, идущих на приготовление марочных столовых вин, желательнее отстаивать при 10-12°C, применяя искусственное охлаждение и сульфитацию 50-75 мг/дм³. Применение высоких доз SO₂ при отстаивании (150-200 мг/дм³) резко увеличивает образование уксусного альдегида во время брожения. Небольшие количества сернистого ангидрида (50-75 мг/дм³) при альдегидообразовании. Поэтому, при переработке здорового винограда доза SO₂ при отстаивании сусла не должна превышать 120 мг/дм³.

М. А. Герасимов указывает, что для полного самоосветления сусла требуется не менее 24 ч и что образующиеся при отстаивании танаты осаждаются, очищая одновременно сусло от дрожжей, бактерий и взвешенных частиц. Степень полного осаждения мути влияет на ход спиртового брожения и на формирование букета вина [60].

Наличие мути в сусле способствует усилению отрицательного действия полифенолоксидазы и побурению сусла [61]. Для предохранения сусла от окисления в основном применяется сернистый ангидрид. Окислительные ферменты можно удалять из сусла путем адсорбции их на бентоните. Обработка сусла бентонитом особенно целесообразна при приготовлении белых столовых и полусладких вин.

Для ускорения и улучшения осветления и уменьшения содержания в сусле и вине азотистых веществ рекомендуется производить обработку их бентонитом в дозах 10-13 г/дм³ [62]. Особое значение обработка сусла бентонитом приобретает в годы сильного загнивания винограда, когда в сусле много оксидаз, вызывающих побурение и оксидазный касс в белых столовых винах. При обработке сусла бентонитом в дозах 1 г/дм³ в Болгарии [63] наблюдали значительное снижение содержания общего азота сусла (на 13,5-26,5%). Более высокие дозы бентонита не поглощали из сусла большего количества общего азота.

При обработке сусла бентонитом становится возможным снизить дозу сульфитации на отстаивании. Так, Д. Милисавлиевич показал, что 60 мг/дм³ SO₂ и 2 г/дм³ бентонита по своему действию, подавляющему оксидазы, равны сульфитации в дозе 100 мг/дм³. Бентонит адсорбирует оксидазы и, оседая, увлекает их на дно. Однако инактивация оксидаз при этом не происходит. Если осадок бентонита вновь взмутить, то частичка бентонита вместе с адсорбированными на них ферментами вступают в контакт с воздухом в поверхностных слоях сусла и кислород снова поглощается суслом. Поэтому, после осветления сусло следует быстро отделить от бентонитового осадка.

Кроме ферментов, бентонит адсорбирует и некоторые витамины. Так, по данным Н. И. Бурьян [64], при обработке виноградного сока бентонитом (крымским килом) витамин В 1 выводится из сока полностью, В6-на 75-80%, никотиновая кислота-на50%, пантотеновая кислота 20%. Инозит бентонитом не адсорбируется. Витамин В2 (рибофлавин) при обработке виноградных соков бентонитовыми глинами удаляется на 50% [65]. В то же время при фильтрации виноградного сока через диатомит содержание рибофлавина не уменьшается.

Личев и Никова [66] исследовали влияние бентонита в дозах от 2 до 8 г/дм³ на ход брожения при температуре 20°C. опыты показали, что брожение с бентонитом протекает быстрее. Пенообразование при брожении значительно меньше, так как бентонит связывает белковые вещества, способствующие образованию стойкой пены.

При отстаивании в течение суток кислород проникает только в поверхностный слой сусла на глубину 10-15 см. В нижних слоях наличие кислорода кажущееся, так как оно обусловлено перекисями, которые концентрируются на твердых частицах, образующих муть. Поэтому с точки зрения окисления отстаивание сусла не представляет опасности, конечно, при соответствующей защите сернистым ангидридом. За время отстаивания, в сусле уменьшается количество общего и белкового азота, в результате перехода его в осадок проходят ферментативных процессы, изменяющие химический состав сусла. Протопектин превращается в пектин. Коллоидные вещества коагулируют и выпадают в осадок. Поэтому замена отстаивания сусла, проходящего определенное время, центрифугированием без предварительной обработки может привести к сокращению процессов, протекающих при отстаивании, и снижению качества продукции. Однако отстаивание сусла на больших заводах - операция периодическая, требующая большого количества отстойных резервуаров и трудно поддающаяся механизации. В крупных отстойных резервуарах развивается нежелательная

микрофлора. Поэтому в настоящее время усиленно ищут другие способы осветления сусла. Метод осветления сусла до брожения с помощью электро-сепарирования [67] не нашел широкого применения в промышленности. Сущность метода заключается в том, что получающиеся в результате электролиза при пропускании через сусло постоянного электрического тока пузырьки газа, поднимаясь, собирают на поверхности жидкости взвешенные в ней частицы; образующийся на поверхности сусла шлам удаляется скребками. Центрифуги для осветления сусла в непрерывном потоке также не нашли широкого применения в СССР из-за отсутствия надежных конструкций, обеспечивающих хорошее осветление сусла без ухудшения его качества. Наиболее перспективным методом осветления сусла является его обработка бентонитом в потоке с последующим осветлением также в потоке в осветлителях. Осветлитель представляет собой вертикальный цилиндрический резервуар, в нижнюю часть которого подается сусло, обработанное бентонитом. Сусло, поднимаясь вверх, осветляется и выходит из верхней части осветлителя без грубых взвесей. Осадок время от времени удаляется. В ряде случаев, когда осветление проходит не полностью, вместе с бентонитом к суслу добавляется полиакриламид в дозах 0,01%, что значительно ускоряет процесс осветления сусла и улучшает его качество.

Обработка сусла бентонитом практически не влияет на процесс брожения, но значительно увеличивает стабильность получаемых вин. Так, вино “Ркацителли”, полученное из сусла, обработанного бентонитом при отстаивании, было стабильным 6-7 месяцев, обработанное бентонитом дважды - 10 месяцев, а контроль без обработки - только 3 месяца. Вино Баян-Ширей (контрольный образец) помутнело через 1,5 месяца, вино из сусла, обработанного бентонитом, через 4 месяца, а с двухразовой обработкой через 6 месяцев [68].

Биохимические процессы, проходящие при осветлении виноградного сусла отстаиванием, существенно влияют на качество и формирование

технологических свойств сусла. В результате биокаталитического действия 0-дифенолоксидазы, содержащейся в виноградном сусле, в присутствии растворенного кислорода протекают окислительные реакции. Содержание в сусле 0-дифенолоксидазы колеблется в широких пределах в зависимости от сорта винограда, поэтому скорость окисления компонентов сусла, полученного из ягод винограда разных сортов, неодинакова [69].

В созревании сусла участвуют также пектолитические и протеолитические ферменты. В результате изменяется химический состав сусла: накапливаются продукты окисления фенольных соединений, уменьшается количество белкового и общего азота, протопектин превращается в пектин, коагулирует и выпадают в осадок высокомолекулярные соединения и коллоиды.

Большое значение при отстаивании сусла имеет взаимодействие фенольных азотистых веществ, в результате чего образуются нерастворимые танаты, которые коагулируют и увлекают в осадок более мелкие частицы, а также клетки дрожжей и других микроорганизмов, что обеспечивает благоприятные условия для последующего брожения сусла на дрожжах чистой культуры.

После отстаивания и ферментации изменяются цвет, аромат и вкус сусла. Цвет становится более темным с желто-коричневыми тонами, аромат усиливается, вкус приобретает зрелость и специфику, свойственную сорту винограда.

При переработке плесневелого винограда получается сусло с большим содержанием окислительных ферментов, в присутствии которых окислительные процессы проходят более глубоко и с большей скоростью. Такое сусло вскоре теряет свои нормальные качества, буреет, и вине развивается порок -оксидазный касс. В этих случаях применяют специальные

технологические приемы, направленные на подавление окислительных процессов, и сокращают продолжительность отстаивания.

Продолжительность процесса зависит от назначения и состава сусла, содержания в нем взвесей и микроорганизмов и колеблется от 14 до 24 ч. В большинстве случаев достаточное осветление и ферментация сусла обеспечивается за 14-16 ч. Определяющей технологической операцией, при изготовлении белых столовых вин, является отстаивание виноградного сусла. При предварительном отстаивании удаляются из сусла муть и взвешенные частицы тканей виноградной ягоды, отрицательно влияющие на вкусовые качества вина. Хорошее осветление сусла перед брожением является одним из важнейших технологических приемов, влияющих на повышение качества вин. Отстаивание продолжается 14-16 ч, после чего осветленное сусло перекачивается в бродильный резервуар. Для получения виноматериалов, сусло отстаивается с охлаждением до 10°C при сульфитации 100-150 мг/дм³. Время отстаивания 18-24 ч. Многочисленные попытки заменить отстаивание сусла фильтрованием или центрифугированием его пока положительных результатов не дали.

Вино из хорошо отстоявшегося сусла, как правило, имеет хорошо развитый аромат, гармоничный вкус, лучшую прозрачность, повышенную стабильность.

Опытный образец осветления проводили на итальянской линии агрофирмы «Мехнат». Здесь осветление проводится в потоке за 4 часа. Перед подачей на осветление в сусло задается расчетное количество бентонита, желатина, инертного газа. Барботирование инертным газом длится 4 часа.

При обработке сусла бентонитом становится возможным снизить дозу сульфитации на отстаивании. Установлено, что 60 мг/дм³ SO₂ и 2 г/дм³ бентонита по своему действию, подавляющему оксидазы, равны сульфитации в дозе 100 мг/дм³. Бентонит адсорбирует оксидазы и, оседая, увлекает их на

дно. Однако инактивации оксидаз при этом не происходит. Если осадок бентонита вновь взмутить, то частичка бентонита вместе с адсорбированными на них ферментами вступают в контакт с воздухом в поверхностных слоях сусла и кислород снова поглощается суслом. Поэтому, после осветления сусло следует быстро отделить от бентонитового осадка.

Кроме ферментов, бентонит адсорбирует и некоторые витамины. Так, при обработке виноградного сока бентонитом витамин В1 выводится из сока полностью, В6-на 75-80%, никотиновая кислота на 50%, пантотеновая кислота на 20%. Инозит бентонитом не адсорбируется. Витамин В2 (рибофлавин) при обработке виноградных соков бентонитовыми глинами удаляется на 50%. В то же время при фильтрации виноградного сока через диатомит содержание рибофлавина не уменьшается.

Однако отстаивание сусла на больших заводах операция периодическая, требующая большого количества отстойных резервуаров и трудно поддающаяся механизации. В крупных отстойных резервуарах развивается нежелательная микрофлора. Поэтому в настоящее время усиленно ищут другие способы осветления сусла.

Биохимические процессы, проходящие при осветлении виноградного сусла отстаиванием, существенно влияют на качество и формирование технологических свойств сусла.

В результате биокаталитического действия 0-дифенолоксидазы, содержащейся в виноградном сусле, в присутствии растворенного кислорода протекают окислительные реакции. Содержание в сусле 0-дифенолоксидазы колеблется в широких пределах в зависимости от сорта винограда, поэтому скорость окисления компонентов сусла, полученного из ягод винограда разных сортов, неодинакова. Уменьшение активности СОД после отстаивания говорит об уменьшении активных форм кислорода, но изменение его между 4 и 12 часами отстоя незначительно 0,02 УЕ/мл.

Активность каталазы и пероксидазы с увеличением сроков осветления начинает активизироваться только после образования в среде перекисей см. Табл1.

Активность ферментов при осветлении сусла современным способом в присутствии инертного газа приведены в таблицах и диаграммах.

Активность ферментов при осветлении.

Табл. 4

Наименование ферментов	До осветления	Через 4 часа	через 12 час.
СОД Уе/мл	0,610	0,820	0,800
КТ, мккат/л	11,30	10,16	10,18
ПР, Нмоль/мин/мл	1,08	1,36	1,52
Протеаназа, Уе/мин/мл	0,160	0,171	0,200

После отстаивания и ферментации изменяются цвет, аромат и вкус сусла. Цвет становится более темным с желто-коричневыми тонами, аромат усиливается, вкус приобретает зрелость и специфику, свойственную сорту винограда.

При переработке плесневелого винограда получается сусло с большим содержанием окислительных ферментов, в присутствии которых окислительные процессы проходят более глубоко и с большей скоростью. Такое сусло вскоре теряет свои нормальные качества, буреет, и вине развивается порок-оксидазный касс. В этих случаях применяют специальные

технологические приемы, направленные на подавление окислительных процессов, и сокращают продолжительность отстаивания.

3.2. Обсуждение. Супероксиддисмутаза – СОД (правиль).

Существует несколько видов супероксиддисмутазы: супероксиддисмутаза 1-цитозольная и супероксиддисмутаза 2-митохондриальная, супероксиддисмутаза 3-внеклеточная [70]. Они имеют следующие характеристики:

Супероксиддисмутаза 1, цитозольная

Обозначения	
Символы	SOD1; ALS, ALS1
Entrez Gene	6647
HGNC	11179
OMIM	147450
RefSeq	NM_000454
UniProt	P00441
Другие данные	
Шифр КФ	1.15.1.1
Локус	21-я хр., 21q22.1

супероксиддисмутаза 2, митохондриальная

Обозначения	
Символы	SOD2
Entrez Gene	6648
HGNC	11180

OMIM	147460
RefSeq	NM_000636
UniProt	P04179
Другие данные	
Шифр КФ	1.15.1.1
Локус	6-я хр., 6q25

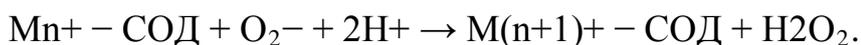
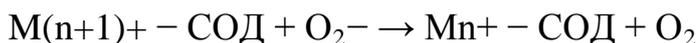
[супероксиддисмутаза 3](#), внеклеточная

Обозначения	
Символы	SOD3
Entrez Gene	6649
HGNC	11181
OMIM	185490
RefSeq	NM_003102
UniProt	P08294
Другие данные	
Шифр КФ	1.15.1.1
Локус	4-я хр., 4 pter-q21

В наших исследованиях исследовали супероксиддисмутазу внеклеточную. Как видно из диаграммы 2 дисмутация наблюдается при отстое, но с увеличением выдержки активность ее падает.

Супероксиддисмутаза (71 СОД, КФ 1.15.1.1) относится к группе антиоксидантных ферментов. Вместе с каталазой и другими антиоксидантными ферментами она защищает организм человека от постоянно образующихся высокотоксичных кислородных радикалов.

Супероксиддисмутаза катализирует дисмутацию супероксида в кислород и пероксид водорода. Таким образом, она играет важнейшую роль в антиоксидантной защите практически всех клеток, так или иначе находящихся в контакте с кислородом. Реакцию дисмутации супероксида, катализируемую супероксиддисмутазой, можно разбить на две части (парциальные реакции) следующим образом:



где M (переходный металл) = Cu (n=1) ; Mn (n=2) ; Fe (n=2) ; Ni (n=2).

В данной реакции окислительное состояние катиона металла осцилирует между n и n+1.

В зависимости от типа переходного металла-кофактора активного центра фермента, существует несколько форм супероксиддисмутазы: Cu,Zn-СОД (медь как кофактор активного центра и цинк как кофактор, стабилизирующий конформацию), Mn-СОД (с марганцем в активном центре), а также менее распространённые Fe-СОД (с железом) и Ni-СОД (с никелем).

Цитозоль практически всех эукариотических клеток содержит супероксиддисмутазу типа Cu,Zn-СОД. Это самая распространённая супероксиддисмутаза и единственная коммерчески доступная форма фермента (как правило выделенная либо из эритроцитов, либо из печени быка: PDB 1SXA, EC 1.15.1.1). Cu, Zn-СОД является гомодимером (то есть состоящим из двух одинаковых субъединиц), молекулярная масса 32,5 кДа. Субъединицы белка связаны друг с другом в первую очередь гидрофобными и электростатическими связями. Медь и цинк связаны с белковой частью молекулы через гистидиновые остатки.

Митохондрии эукариотических клеток и многие бактерии содержат супероксиддисмутазу с Mn (Mn-SOD). Например, митохондриальная СОД человека: PDB 1N0J, EC 1.15.1.1, молекулярная масса 86-88 кДа. Марганец в этом ферменте координирован с белком через 3 гистидина и аспартат и с водой либо гидроксильным лигандом в зависимости от окислительного состояния Mn (Mn(II) или Mn(III)).

E. coli и многие другие бактерии содержат формы фермента с железом (Fe-SOD), другие — с марганцем (Mn-SOD), а некоторые — оба эти типа. (*E. coli* Fe-SOD: PDB 1ISA, EC 1.15.1.1). Активные центры Mn- и Fe-SOD содержат те же аминокислоты в боковых цепях.

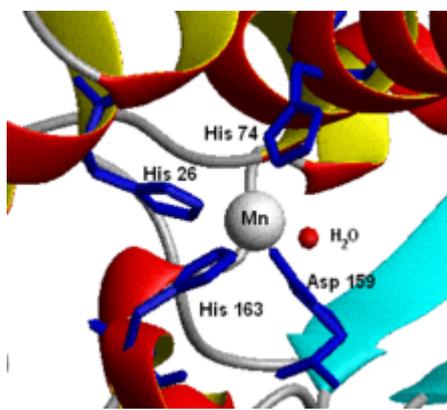


Рис.1. Структура активного центра митохондриальной супероксиддисмутазы (СОД2).

В организме человека присутствуют все три типа СОД. СОД1 находится в цитоплазме, СОД2 — в митохондрии, а СОД3 — это внеклеточная (экстраклеточная) форма. Первая форма — димерная, тогда как вторая и третья формы — тетрамерные (состоящие из 4 равных субъединиц). СОД1 и СОД3 содержат медь в активном центре и цинк как структурный компонент, а СОД2 содержит марганец в активном центре. Гены этих форм локализуются соответственно в хромосомах 21, 6 и 4 (21q22.1, 6q25.3 и 4p15.3-p15.1). Цитозольная СОД1 является небольшим белком с молекулярной массой 32,5 кДа, молекулярная масса митохондриальной

СОД2 — около 86-88 кДа. Экстраклеточная СОД3 представляет собой самую крупную супероксиддисмутазу, молекулярная масса его— 135 кДа.

Биохимия действия супероксидного радикала следующая: (O_2^-) спонтанно довольно быстро дисмутирует в кислород O_2 и пероксид водорода H_2O_2 ($\sim 105 M^{-1} s^{-1}$ при pH 7). Тем не менее, супероксид ещё быстрее реагирует с некоторыми другими молекулами-мишенями, такими как оксид азота NO, образуя при этом пероксинитрит. Однако, супероксиддисмутаза обладает самой высокой известной каталитической скоростью реакции ($\sim 10^9 M^{-1} s^{-1}$). Реакция лимитирована только частотой столкновения супероксида с ферментом (т. н. диффузионно-лимитированная реакция), благодаря чему супероксиддисмутаза защищает клетку от повреждающего действия супероксида.

В нашем случае, при отстое, особенно с увеличением его длительности, активность СОД падает см рис.2.

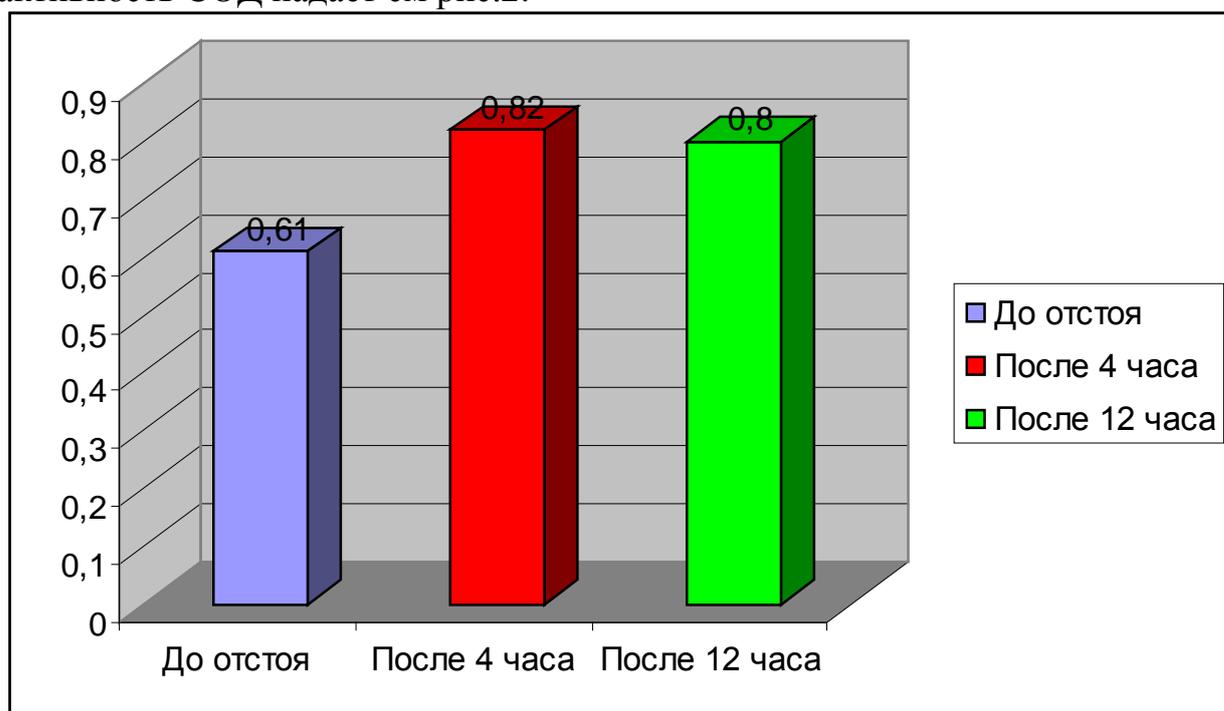


Рис. 2. Влияние продолжительности отстоя на активность СОД.

Видимо, инертный газ барботируя среду в течении четырех часов вытесняет кислород, предупреждая процесс образования активных форм

кислорода, катализируемый СОД, обеспечивая при этом отстой без участия активных форм кислорода т.е. окисления.

Супероксид является одним из основных прооксидантов в клетке, поэтому СОД играет одну из ключевых ролей в антиоксидантной защите организма от сильного окислительного стресса [72]. Гидролитические ферменты активны и расщепляя полимеры виноградного сусла определяют стабильность вин к белковым помутнениям. Так, по данным биохимического анализа, активность протеиназы растет параллельно росту длительности процесса отстоя виноградного сусла.

Все протеолитические ферменты по механизму действия на субстрат разделялись на протеиназы и пептидазы. Считалось, что гидролиз белка протекает в две стадии: сначала под действием протеназ белки гидролизуются до пептидов а затем на пептиды действуют пептидазы и расщепляют их до аминокислот.

Протеолитические ферменты часто рассматривают не с точки зрения их принадлежности к отдельным подклассам, а по их способности проявлять максимальную активность в определенной зоне рН субстрата.

По этому свойству все протеолитические ферменты можно разделить на кислые, слабокислые, нейтральные, слабощелочные и щелочные. К кислым относятся протеиназы, проявляющие максимум активности при рН 1,7–3,0; к слабокислым–4,0–6,0; к нейтральным–6,5–7,5; к слабощелочным–7,5–8,0; к щелочным–при рН выше 8,0–8,5.

Существует мнение, что протеолитические ферменты микробного происхождения обладают способностью гидролизовать пептидные связи в белках различного состава и происхождения. Так, по многочисленным данным, протеиназы аспергилловых грибов способны расщеплять желатин, казеин, гемоглабин, альбумин, растительные белки, фибриновые сгустки,

кератин, эластин, тогда как ферменты животного происхождения обладают более строгой специфичностью, т.е. более узким диапазоном действия.

Протеиназа К имеет следующие характеристики: [74]

Обозначения	
Символы	
UniProt	P06873
Другие данные	
Шифр КФ	3.4.21.64

Протеиназа К (протеаза К, эндопептидаза К; КФ 3.4.21.64) — сериновая протеаза широкого спектра. Обнаружена в 1974 году в экстракте грибка *Engyodontium album*. Протеиназа К способна расщеплять кератин, основной белок волос, отсюда и пошло её название. Структур Протеиназа К состоит из 279 аминокислот. Для ферментативной активности требует ионов Ca_2^+ . Молекула белка связывает 2 иона кальция. применение в биологии.

В молекулярной биологии протеиназа Каталаза широко применяется для удаления белковой примеси в препаратах нуклеиновых кислот. Кроме этого, протеиназа К устойчива ко многим денатурирующим агентам, таким как додецил-сульфат натрия и мочевины, хелатирующим агентам (ЭДТА) и сульфгидрильным реагентам, а также к ингибиторам трипсина и химотрипсина. Протеиназа К работает в широком диапазоне pH (4-12), её оптимум - pH 7,5-12. Всё это делает её чрезвычайно удобной в применении. Более этого, денатурирующие агенты повышают доступность пептидных связей белков для протеиназы К и, таким образом, даже ускоряют их гидролиз.

Рис. 3. Пептидные связи белков для протеиназы К.

Основные участки в пептиде, распознаваемые и гидролизуемые протеиназой, — пептидные связи, соседствующие с карбоксильной группой алифатических и ароматических аминокислот с закрытой альфа-амино-группой. Широко используется благодаря её широкой специфичности.

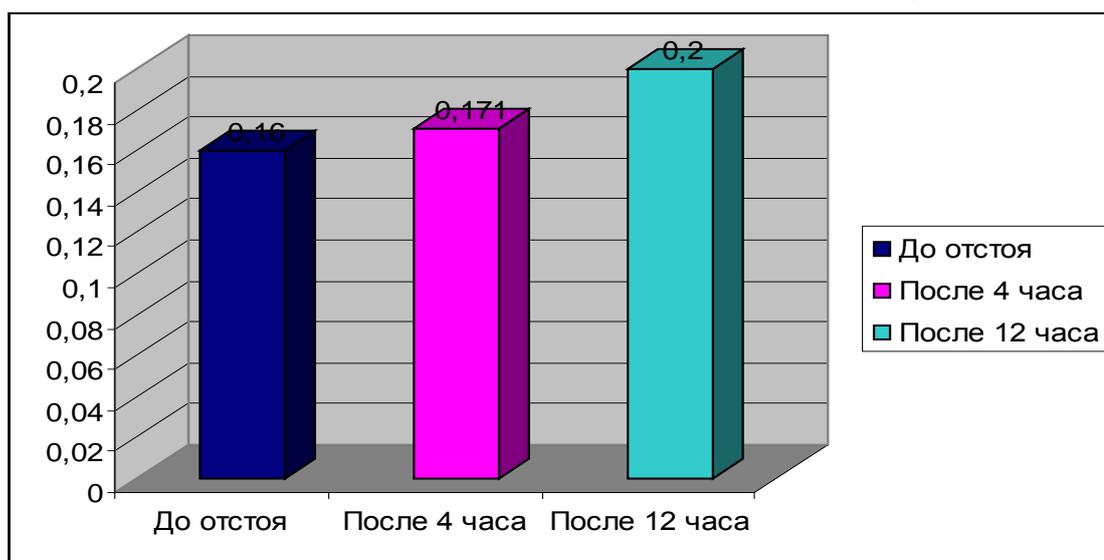


Рис.4. Влияние продолжительности отстоя на активность протеиназы.

Виноградное сусло имеет кислотную рН, поэтому имеем дело с кислыми протеиназами. Т.Е. Отстой сусла это ферментативный технологический прием.

Успешное его проведение обеспечивает качество продукции и высокую стабильность в период гарантийного срока хранения готовой продукции.

Каталаза (от греч. *καταλύω* — разрушаю) — фермент (КФ 1.11.1.6), который разлагает образующуюся в процессе биологического окисления перекись водорода на воду и молекулярный кислород ($2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$), а также окисляет в присутствии перекиси водорода низкомолекулярные спирты и нитриты. Содержится почти во всех организмах. Участвует в тканевом дыхании. Каталаза была получена в кристаллическом состоянии.

Обозначения	
Символы	CAT
Entrez Gene	847
HGNC	1516
OMIM	115500
RefSeq	NM_001752
UniProt	P04040
Другие данные	
Шифр КФ	1.11.1.6
Локус	11-я хр., 11p13

Её молекулярная масса оценивается в 250 кДа. Фермент широко распространён в клетках животных, растений и микроорганизмов.

Относится к хромопротеидам, имеющим в качестве простетической (небелковой) группы окисленный гем. Специфичность каталазы по отношению к субстрату-восстановителю невелика, поэтому она может катализировать не только разложение H_2O_2 , но и окисление низших спиртов.

Функция каталазы сводится к разрушению токсической перекиси водорода, образующейся в ходе различных окислительных процессов в организме.

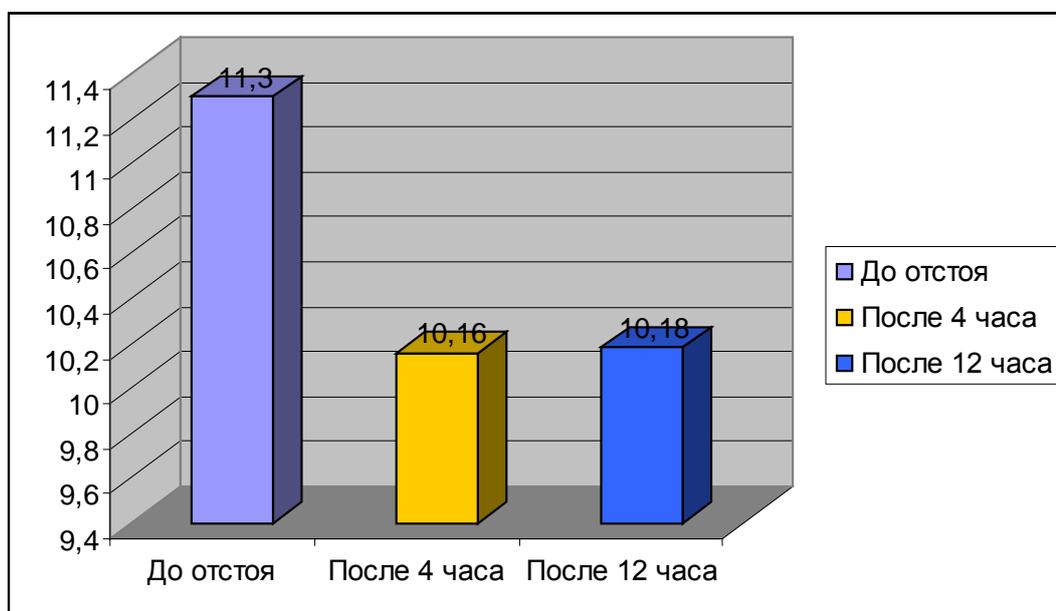


Рис 5. Влияние продолжительности отстоя на активность каталазы.

Следовательно при проведении отстоя барботированием инертного газа радикальное окисление отсутствует.

ВЫВОДЫ

- При освещении в потоке инертного газа имеет место ферментативный процесс.
- Отстой виноградного сусла современным способ является биотехнологическим приемом, обеспечивающим ферментативный гидролиз полимеров сусла и одновременно предотвращающий окисление среды
- избежать излишнего окисления за счет присутствия активных форм кислорода за счет наличия и прироста активности СОД
- расщепить белки сусла ферментом протеиназа и при этом имеет место гидролитические ферментативные процессы.
- отсутствует перекисное окисление.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1.И.А.Каримов.»Мировой финансово-экономический кризис, пути и меры по его преодолению в условиях Узбекистана».Ташкент-«Узбекистан»2009.47с.

2.Учебное пособие. И.А.Каримов.»Мировой финансово-экономический кризис, пути и меры по его преодолению в условиях Узбекистана».Ташкент «Экономика» 113с.

3.Абдуллаев .Т.Виноградарство и виноделие Узбекистана: Состояние и перспективы // Виноделие и виноградарство. -2010.-№2.- С.5-7

4.Ролло Д., Литвак В. Виноградарство и виноделие мира. // Виноделие и виноградарство.2010.- №1-.С.6-7.

5.И.А.Рогов., Л.В. Антипова., Г.П. Шуваева. Пищевая Биотехнология.- Москва: КолосС, 2004.-440с.

6.Биотехнология: состояние и перспективы развития // Материалы Московского международного конгресса.-М.:ЗАО «ПИК Максима», РХТУ им. Д.И.Менделеева, 2003.Ч.1,384с.;Ч.2, %;с.

7.Грачева И.М., Иванова Л.А., Кантере В.М. Технология микробных белковых препаратов и аминокислот.-М.: Колос, 1992.-383с.

8.Биохимические системы в оценке качества продуктов питания.- М.:Пищевая промышленность, 2000.-414.

9.Грачева И.М. Кривова А.Ю. Технология ферментных препаратов.-М.: Элеватор, 2000.-512с.

10.Е. Коновалова Переменно-пористый многослойный картон для осветления фильтрацией винодельческой продукции. //Виноделие и виноградарство.-2003.-№2.-С.28-29.

11. Тимофеев А.Н., Агеева И.М. “Технология виноделия” 1993.
12. Абдуразакова С.Х. Совершенствование технологии бродильных производств на биокаталитической основе. Ташкент. 1990 г..
13. сайт www.Google.com Виноделы вкладывают деньги в реконструкцию "первички".
14. А.В.Кобоян. Советский «танкодром» путь винограда. Жл. Напитки №2.2007. компания «Фруктонад Групп».
15. Гирявенко А.В., Щербаков С.С. Производство виноградных соков прямого отжима из новых сортов винограда. //Виноделие и виноградарство.- 2009.-№ 2.-С.28-31.
16. сайт www.Google.com Валуйко Г.Г. Технология виноградных вин. 2001,624с. фирма «ДИЛ».
17. сайт www.Google.com Александр Ставцев. Красное и белое, «Арсенал» винодела Нефилофские вопросы. Жл. ”Напитки” 2007.№ 2 С.
18. сайт www.Google.com От лозы к бутылке — технология изготовления вина.
19. Справочник по виноделию. Под ред. Г.Г.Валуйко, В.Т.И.Косюры.- Симферопль.:Таврида,2000-624с.
20. Энциклопедия винограда-Кишинев.-Молдавская Советская Энциклопедия. 1986.Том. 1-3.по 510с.
21. mail:milesta@milesta.ru.
22. сайт <http://www.milesta.ru>.
23. М.Н. Елисеев и др. Дисперсность сухого красного вина при термообработке и действии электролита..Экономическая академия им.Г.В Плеханова //Виноделие и виноградарство.-2007.-№ 2.-С.24.4.

24.Афиногенова В.А., Раджабов А.К. Влияние кизельгура на скорость шампанизации вина. //Виноделие и виноградарство.-2007.-№ 2.-С.25.

25.Ковалева Н.Н. Использование природных дисперсных минералов при шампанизации вина. //Виноделие и виноградарство.-2004.-№ 2.-С.23.

26.Т.Давыдов В.В., Каграманов Г.Г. Мембранные технологии и установки "микрофльтрации и стабилизации вин и виноматериалов//Ликероводочное производство и виноделие. 2003. № 6 . С.20-23.

27.Справочник по виноделию. Под.ред. Г.Г.Валушко, В.Т.Косюры.- Симферопль,»Таврида», 2000-624с.

28.Кудрявцев С. Фльтрация виноматериалов. Замена фильтр-пресса оборудованием «Зета Плюс» для осветляющей и обеспложивающей фильтрации вина//Индустрия напитков 2003. № 5 (29). С. 16-17.

29.Сташинов Г.Ю., Федосова Т.И. Криомацерация при производстве высококачественных вин. //Виноделие и виноградарство.-2002.-№ 2.-С.24-26

30.Панкин М.И., Оселедцева И.В., Гугучкина Т.И., Преснякова О.П. Влияние углекислотной мацерации на химический состав молодых белых вин. //Виноделие и виноградарство.-2009.-№ 2.-С.26-27.

31.Zimman, W. Joslin, M. Lyon, J. Meier, and A. Waterhouse. "Maceration variables affecting phenolic composition in commercial-scale Cabernet Sauvignon winemaking trials". Am. J. Enol. Vitic. 53:2, 93-98. 2002.

32.Абдуллаев У.К., Совершенствование технологии виноделия на биокаталитической основе путем стимулирования экзогидролаз винограда и винных дрожжей. Автореферат. 2009. Тапшенкт..

33.И.Зинченко. Применение цитолитического ферментного препарата в виноделии.-Кишинев.-:Картя Молдовеняскэ.-1975.-201стр.

34.сайт www.aginternetnetwork.org.

35.Туйчиева С.Т., Абдуразакова С.Х., Сапаева З.Ш., Абдуллаева Б. А. Воздействие пестицидов на виноград и вино. //Виноделие и виноградарство.- 2003.- . № 3.-С.22-23.

36.Новый препарат для осветления натуральных виноматериалов. [36 Ю.А Телегин, А.Е Линецкая, В.И Бодорева Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной промышленности. Виноделие и виноградарство-М.: ООО «Пищепромиздат» 2002. №2 , С27.]

37.Справочник по виноделию Валуйко Г.Г., 2005, 589 стр.

38.В. Кобоян, А.Ставцев. "Второе пришествие первичного виноделия. Обзор российского рынка оборудования первичного виноделия"-М.:-жл Напитки № 2. 2007, компания «Фруктонад Групп».

39.сайт www.clibragu.ru.

40.Телегин Ю.А., Липецкая А.Е., Бодорева В.И.Использование дубового экстракта для обработки виноматериалов//Виноград и вино России. — 2000. — № 3 — С. 28-29.

41.сайт www.aginternetnetwork.org.

42.сайт www.Jst.Go.Jp.

43.Александр Ставцев. Красное и белое, «Арсенал» винодела.

Нефилософские вопросы. Жл. "Напитки" 2007.№ 2 С 13-14.

44.Т.Давыдов В.В., Каграманов Г.Г. Мембранные технологии и установки "микрофльтрации и стабилизации вин и виноматериалов//Ликероводочное производство и виноделие. 2003. № 6 . С.20-23.

45.Кудрявцев С. Фильтрация виноматериалов. Замена фильтр-пресса оборудованием «Зета Плюс» для осветляющей и обеспложивающей фильтрации вина//Индустрия напитков 2003. № 5 (29). С. 16-17.

46.сайт www.Google.com Материал из Википедии—свободной энциклопедии.

47.сайт www.Google.com Путь винограда.

48.Маркосов В.А. Аспекты ферментативного катализа в технологии красных вин. Изв.вузов Пищ.технология.Виноделие.-Деп. В ВНИНТИ 25.03.10, №79-В-2010.

49.Абдуразакова С.Х. Закономерность в секреции внеклеточных гидролаз у винных и пивных дрожжей//Сборник научных трудов.-Ташкент, 1981.-№3.-С.3-13.

50.Абдуллаева БА., Туйчиева С.Т., Абдуразакова С.Х., Сапаева З.Ш. Активность экзоферментов при сбраживании виноградного сусла. // Виноделие и виноградарство. Москва. 2003. № 3. С.22-23.

51.Чумакова О.В. (1995). Активность трипсиноподобных и химотрипсиноподобных протеиназ при первичном гломерулонефрите у детей/Дисс. Канд.мед.наук. М. 168 с.

52.Cantarelli C.The use of immobilized yeasts in wine fermentation//J.Food Sci.1989.-№3.-С.3-2.Анг.

53.Методы технохимического контроля в виноделии". В.Г.Гержилова, -М.:2002, 260 стр.

54.Контроль качества продукции физико-химическими методами. Вино и виноматериалы. Ашапкин В. В. и др., изд. М.: ДеЛи принт, 2005, 124 стр.

55.Ironzo J,Usedo F.Perez A.Study of oenological characteristics and anzymatic activities,of wine yeasts.//Food Microbiol.1998.-№4.-С 399-406.Анг.

56.Способ определения пероксидазной активности в биологических жидкостях. Анзабаева Л.Ф., Кильсенбаева Ф,А., Арефьева Н.А. патент № 2180114 номер заявки 2000125850/14.-13.10.2000.

57.Д. И. Метелица., Е.И. Карасева. Инициирование и ингибирование свободнорадикальных процессов в биохимических пероксидазных системах (обзор) //Прикладная биохимия и микробиология.- 2007.- том 43.- № 5. С. 537-564.

58.Иммуноферментный анализ: Пер. с англ./Под ред. Т. Нго и Ленхоффа // М.: Мир, 1988.-446 с. (С.12)).

59.Величковский Б.Т. Свободнорадикальное окисление как звено срочной и долговременной адаптации организма и факторы окружающей среды // Вестн. РАМН.-2001.-№6.-С. 45-53.

60.Герасимов М.А. Технология вина.-2-е изд., перераб и доп..- М.:Пищепромиздат, 1959.-641.

61.ДурмишидзеС.В. Дубильные вещества и антоцианы виноградной лозы и вина.

62.Г.Валуйко. Технология столовых вин.-М.;П.П 1969.305с.

63.Г.Валуйко. Технология столовых вин.-М.;П.П 1969.305с.

64.Л.А.Оганесянц и др. Новый метод определения антиоксидантной активности красных вин. //Ж.Виноделие и виноградарство. –Москва,2003.- №5.-С.27-30.

65.Singleton V.L. Fsurvey of Wine Aqinq Reactions Especially with Oxyqen// Proceenqs of ASEV 50` Anniversaru Annial Meeting. Seattle Washinqton-2000. Yune19-23-C323-336.

66.Н.М.Агеева, В.А.Маркосов, Р.А.Неборский, Р.В.Губляя.
Антирадикальное действие красных вин. Виноделие и виноградарство.
3/2009.с.24-25.

67.Родопуло А.К. Основы биохимии виноделия.-М.: Легкая и пищевая
промышленность, 1983.- 240 с.

68.Кудрявцев С. Фильтрация виноматериалов. Замена фильтр-пресса
оборудованием- «Зета Плюс» для осветляющей и обеспложивающей
фильтрации вина – Индустрия напитков. 2003.№5 (29) С.16-17. 69
З.Н.Кишковский, И.М.Скурихин. Химия вина.-М.:-Пищевая
промышленность.1976.-312стр.

70. Энциклопедии — свободной энциклопедии.

71.Справочник по виноделию. Валуйко Г.Г.,-М.: 2005, 589 стр.

72. Vivas, N., Zamora, F. & Glories, Y., 1993. Incidence des certains
facteurs sur la consommation de l'oxygene et sur le potentiel d'oxydoreduction
dans le vins. J. Int. Sc. de la Vigne et du Vin 27, 23-34.

73.Das, T.N., R.E. Huie, and P. Neta. 1999. Reduction potentials of $SO_3^{\bullet-}$,
 $SO_5^{\bullet-}$ and $S_4O_6^{\bullet 3-}$ radicals in aqueous solution. J. Phys. Chem. 103:3581-3588.

74.Саломов Ш., Ахмедова А. Активность протеиназы в условиях
совмещенного способа хересования. //Ж. Индустрия напитков.2006.№3.С.34-
35.

75.Биотехнология пероксидаз растений Ред. А.М. Егоров. Итоги науки
и технология. М.: ВИНТИ, 1992. Т. 36. 170.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Расулова Т.А Ферментативные процессы при отстое виноградного суслу XX-научно-технической конференции молодых ученых, магистрантов и студентов бакалавриата. «Умидли кимёгарлар-2011» 2-том С.95-96. ТашХТИ.2011й.

ПРИЛОЖЕНИЕ