

ВЛИЯНИЕ КОМПОНЕНТОВ УГЛЕВОДНО-КИСЛОТНОГО И ФЕНОЛЬНОГО КОМПЛЕКСОВ ВИНОГРАДА НА АКТИВНОСТЬ МОНОФЕНОЛ-МОНООКСИГЕНАЗЫ

THE INFLUENCE OF COMPONENTS OF CARBOHYDRATE AND PHENOLIC ACID COMPLEXES OF GRAPES IN ACTIVITY MONOPHENOL-MONOOXYGENASE

В.Г. Гержикова, С. Н. Червяк

V. G. Herzigova, S. N. Chervak

ФГБУН "Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия "Магарач" РАН", Россия,
E-mail: hv26@mail.ru

FSBSI "All-Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking "Magarach", RAS, Yalta, Russia
E-mail: hv26@mail.ru

Аннотация. Проведена оценка винограда различных сортов по биохимическим и физико-химическим показателям. Выявлены взаимосвязи между компонентами углеводно-кислотного и фенольно-оксидазного комплексов: установлена зависимость МФМО от массовой концентрации фенольных веществ ($r=0,77$) и значения pH ($r=0,73$), показателя окисляемости фенольных веществ виноматериала от величины активности МФМО суслу ($r = - 0,83$). Показана тенденция к снижению активности монофенол-монооксигеназы (МФМО) при возрастании массовой концентрации сахаров в ягоде винограда. Установлено, что минимальные значения активности фермента соответствуют стадии технической зрелости винограда и составляют 40-70 у.е. для ароматических (мускатных) сортов и 130-170 у.е. для неароматических сортов.

Summary. Biochemical and physicochemical parameters of different variety grapes have been evaluated. The links were established between the carbohydrate-acid and phenoloxidase complex components, specifically: the monophenol-monooxygenase dependence on total phenolic compounds ($r = 0.77$) and the pH value ($r = 0.73$); phenolic compounds oxidation value of the wine material on the activity of the monophenol-monooxygenase of the must ($r = - 0.83$). The tendency of the monophenol-monooxygenase to decrease its activity with increased total sugars in the grapes was revealed. It was established that the enzyme activity minimum values correspond to the industrial ripeness stage of the grapes and constitute 40-70 c.u. for aromatic (muscadine) varieties and 130-170 c.u. for non-aromatic varieties.

Ключевые слова: виноград; отстаивание суслу; техническая зрелость; pH; фенольные вещества; показатель окисляемости фенольных веществ.

Keywords: grapes; must settling; industrial ripeness; pH; phenolic compounds; phenolic compounds oxidation value.

Введение. Производство виноматериалов тесно сопряжено с активностью окислительных ферментов виноградной ягоды и их ролью в окислительных процессах [1-7]. Основным ферментом, обуславливающим окислительно-восстановительные превращения фенольных веществ в системе виноград-сусло, является монофенол-

монооксигеназа (МФМО) [1-7].

В неразрушенных клетках виноградной ягоды МФМО и её субстраты находятся в разных компартментах. При дроблении ягоды происходит выход фермента и его субстратов в сусло, в результате чего ОВ-процессы интенсифицируются [1-3, 5]. Активность МФМО сусла зависит от сорта винограда, степени созревания, особенностей переработки и выхода сусла при прессовании [8, 9]. В то же время, взаимосвязь МФМО винограда и степени его зрелости представлена противоречивыми сведениями. По данным Р.К. Миндадзе, наибольшая активность фермента наблюдается при накоплении 19-21 % сахаров, а дальнейшее повышение сахаристости сопряжено с ее падением [9]. Согласно другим источникам, по мере созревания винограда активность МФМО снижается [2].

Сведения относительно динамики МФМО в процессе отстаивания и брожения сусла также носят противоречивый характер: отмечается как снижение активности окислительного фермента в процессе отстаивания сусла [6], так и сохранение 80 % его каталитической активности после окончания брожения [9].

Целью настоящих исследований являлось изучение влияния физико-химических показателей винограда на активность МФМО, а также роли МФМО в ОВ-процессах на стадии отстаивания сусла.

Объекты и методы исследований. Объектами исследований являлся виноград белых сортов традиционно используемых для виноделия (Алиготе, Ркацители, Рислинг рейнский, Совиньон зеленый) и сортов новой селекции института „Магарач” (Подарок Магарача, Первенец Магарача, Цитронный Магарача, Алиготе мускатное), произрастающий в Западном предгорно-приморском районе Крыма.

Сбор экспериментальных данных осуществляли в течение 2010-2014 гг. Технологическую оценку винограда проводили в соответствии с РД 0033483.042-2005 по следующим показателям: массовая концентрация сахаров, фенольных веществ после прессования целых ягод (ФВпця) и после окисления (ФВох), рН сусла, активность фермента монофенол-монооксигеназы (МФМО) [10].

Всего проанализировано 94 партии винограда 8 сортов.

Сортовые виноматериалы были приготовлены согласно следующей технологической схеме: дробление винограда с гребнеотделением → отделение сусла-самотёка и первой прессовой фракции в количестве не более 60 дал/т винограда → сульфитация сусла из расчёта 75 мг/дм³ общего диоксида серы → отстаивание при температуре 10-12 °С в течение 15-24 часов → брожение при температуре 14-18 °С на расе дрожжей Феодосия 1-19.

Динамику активности МФМО определяли в сусле через 1 и 5 часов отстаивания.

При оценке виноматериалов проводили их органолептический анализ и определяли показатель окисляемости фенольных веществ w [11].

Обсуждение результатов. Обобщенные результаты исследования углеводно-кислотного потенциала винограда различных сортов представлены в таблице 1.

Таблица 1

Показатели углеводно-кислотного и фенольно-оксидазного комплексов винограда*

Сорт винограда	Массовая концентрация сахаров, г/дм ³	pH	ФВпця**, мг/дм ³	Вох/ФВпця, %	Активность, МФМО у.е. (x10 ³)
Алиготе	<u>160-211</u> * 188	<u>3,0-3,4</u> 3,2	<u>173-349</u> 254	<u>71-169</u> 112	<u>61-156</u> 97
Ркацители	<u>178-239</u> 205	<u>3,0-3,3</u> 3,1	<u>223-391</u> 322	<u>89-151</u> 109	<u>36-139</u> 64
Рислинг Рейнский	<u>167-199</u> 180	<u>2,9-3,5</u> 3,0	<u>242-396</u> 312	<u>68-111</u> 105	<u>42-139</u> 73
Алиготе мускатное	<u>184-224</u> 197	<u>3,3-3,6</u> 3,4	<u>380-622</u> 455	<u>80-100</u> 88	<u>111-171</u> 138
Цитронный Магарача	<u>215-247</u> 232	<u>3,3-3,5</u> 3,4	<u>569-782</u> 640	<u>84-101</u> 94	<u>61-208</u> 156
Первенец Магарача	<u>17-195</u> 185	<u>2,8-3,1</u> 2,9	<u>240-260</u> 253	<u>97-133</u> 110	<u>32-114</u> 62

*В числителе представлен диапазон значений, в знаменателе – среднее значение показателя

**ФВпця – массовая концентрация фенольных веществ суслу, полученного прессованием целых ягод; Вох/ФВпця – окисляющая способность (склонность фенольного комплекса суслу к окислению кислородом воздуха); МФМО – монофенолмонооксигеназная активность суслу.

Анализ данных свидетельствует о том, что все исследованные партии винограда соответствовали требованиям для технических сортов, предназначенных для промышленной переработки – массовая концентрация сахаров составляла 160-247 г/дм³.

Статистическая обработка данных значений биохимических и физико-химических показателей, полученных для винограда различных сортов, позволила оценить влияние углеводно-кислотного комплекса винограда на ферментативную активность суслу.

Отмечается тенденция к снижению активности МФМО суслу в ходе созревания винограда (рис. 1).

Из представленных данных видно, что с увеличением сахаристости винограда сорта Рислинг рейнский с 167 до 210 г/дм³

активность МФМО снижается в 5,5 раз. Минимальная ферментная активность наблюдается при достижении массовой концентрации сахаров в ягоде 182 г/дм³ и составляет 36-46 у.е. При этом аналогичные значения МФМО для сорта Алиготе соответствуют более высокой сахаристости – 202 г/дм³. Таким образом, ферментная активность винограда зависит как от степени зрелости винограда, так и особенностей сорта.

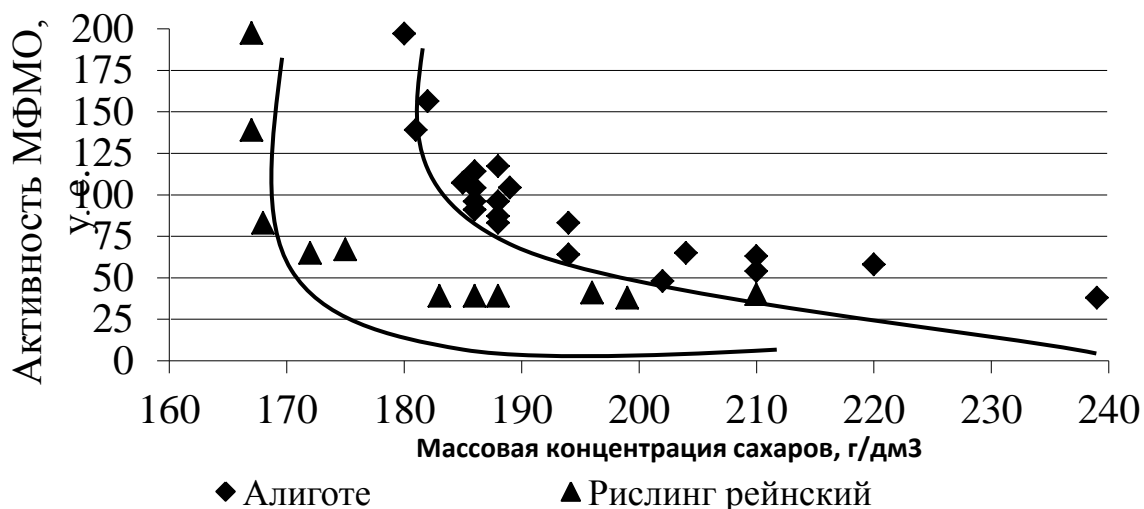


Рис. 1. Зависимость активности МФМО от сахаронакопления в ягоде винограда

Обработка данных позволила установить, что минимальные значения активности МФМО соответствуют стадии технической зрелости винограда и составляют 130-170 у.е. для мускатных сортов (Цитронный Магарача, Алиготе мускатное) и 40-70 у.е. для неароматических сортов, и при последующем увеличении концентрации сахаров их величины изменяются незначительно.

В результате анализа кислотно-оксидазного комплекса винограда выявлена зависимость активности МФМО от pH суслу (рис. 2).

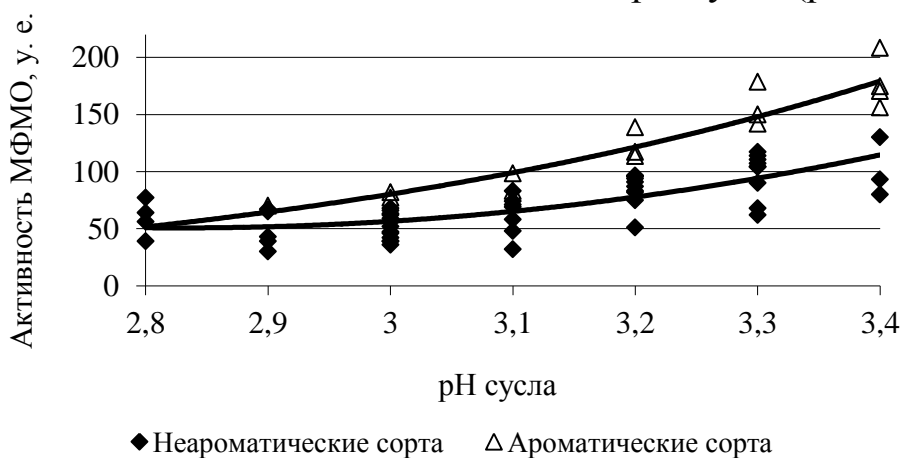


Рис. 2. Влияние pH суслу на активность МФМО в сусле после пресования

В диапазоне pH 2,8-3,1 активность фермента колеблется незначительно и составляет 48,8-68,5 у.е. При pH суслу 3,4 величина

МФМО характеризуется более высокими значениями МФМО в 2-2,5 раза. При этом для мускатных сортов винограда значение показателя в среднем достигает 172 у.е., а для остальных – 97 у.е.

Отмечено, что значение активности МФМО винограда для одних и тех же сортов при равном значении рН и массовой концентрации сахаров в зависимости от климатических условий года различаются в 2-2,5 раза, что по мнению Е.В. Остроуховой зависит от суммы активных температур в вегетационный период [2].

МФМО винограда локализована, главным образом, в твёрдых элементах ягоды (в мякоти, кожице) и представлена в сусле преимущественно нерастворимой формой в виде взвешенных частиц [8, 12]. Результаты наших исследований подтвердили факт зависимости активности фермента от содержания фенольных веществ в сусле после прессования целых ягод, но только в пределах сорта ($r = 0,77$). Виноград сортов Алиготе, Алиготе мускатное, Цитронный Магарача и Подарок Магарача характеризовались более высоким содержанием фенольных веществ и, соответственно, большими значениями активности фермента, чем другие сорта.

Следующим этапом нашей работы было исследование влияния активности МФМО на протекание окислительных процессов на стадии суслу и формирование качества виноматериалов.

Повышение активности окислительных ферментов сопровождается интенсификацией окислительно-восстановительных процессов, что выражается в снижении концентрации фенольных компонентов через 1 час отстаивания суслу на 26-125 мг/дм³. Показатель склонности к окислению фенольного комплекса суслу (Вох/ФВпця, %) для сортов Алиготе мускатное, Цитронный Магарача, Подарок Магарача составляет 80-100 % (табл. 1). Из этого следует, что для данных сортов винограда процессы окисления фенольных веществ и конденсации их полимеризованных форм преобладают над процессами экстракции.

Анализ данных показал, что за 5 часов отстаивания суслу активность МФМО снижается в 4,0-5,8 раза (рис. 3). Наименьшее значение остаточной ферментной активности отмечено в сусле, полученном из винограда сорта Рислинг рейнский и Алиготе, и составляет 8 и 19 у.е. соответственно. Максимальным значением активности МФМО характеризовались образцы суслу из винограда сортов Подарок Магарача, Алиготе мускатное и Цитронный Магарача. После отстаивания остаточная активность МФМО в них оставалась на уровне 17-23 % от исходного значения, что в количественном выражении составляет 37-56 у.е.

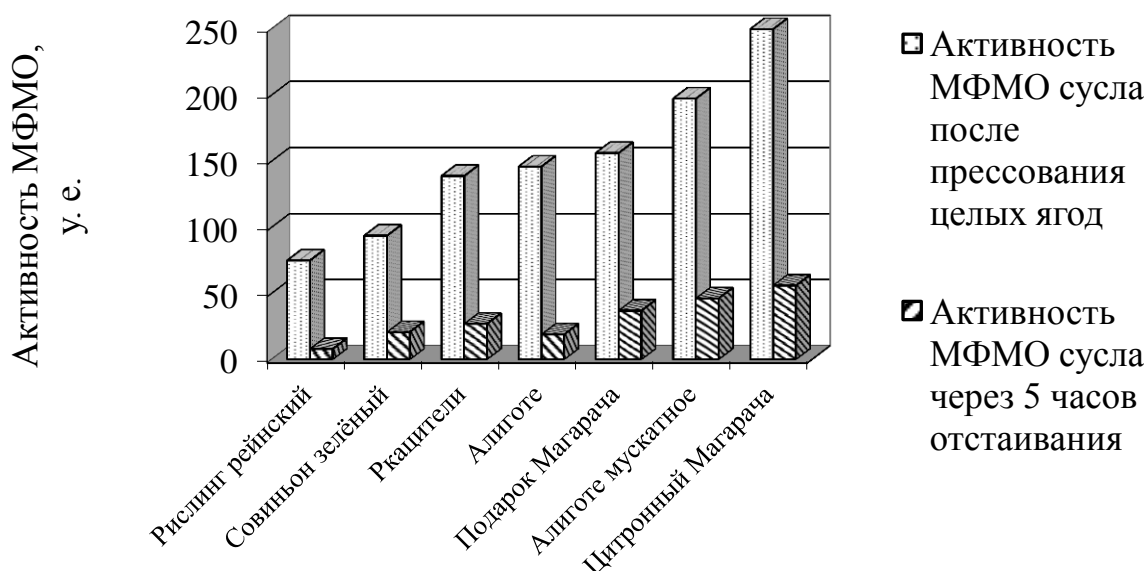


Рис. 3. Зависимость активности МФМО через 5 часов отстаивания от её исходного значения в сусле

Установлена зависимость снижения активности фермента от её исходного значения в сусле после прессования целых ягод ($r = 0,84$). Из этого следует, что сусло с высокой активностью МФМО, несмотря на внесение диоксида серы, будет подвержено более продолжительному воздействию фермента.

После окончания брожения ферментативная активность в полученных виноматериалах не обнаружена.

Степень окислительно-восстановительного состояния системы оценивали с помощью метода потенциометрического титрования и показателя окисляемости фенольных веществ, который рассчитывается как отношение значений прироста потенциала к сумме фенольных веществ виноматериала [3, 4, 11].

Изучение влияния фермента на качественные показатели виноматериалов показало, что повышение активности МФМО с 94 до 250 у.е. обусловило интенсификацию окислительных процессов на стадии сусла, что привело к снижению значения показателя окисляемости фенольных веществ виноматериала в 1,8 раза и отразилось на органолептической оценке виноматериалов (рис. 4). Установлена тенденция к усилению тонов окисленности в аромате и вкусе виноматериалов, а также потере сортовых особенностей.

Полученные данные свидетельствуют о важной роли фермента МФМО в формировании качества виноматериалов. Статистически выявленная взаимосвязь активности МФМО сусла и показателя окисляемости фенольных веществ виноматериала выражается обратной корреляционной зависимостью ($r = - 0,83$).

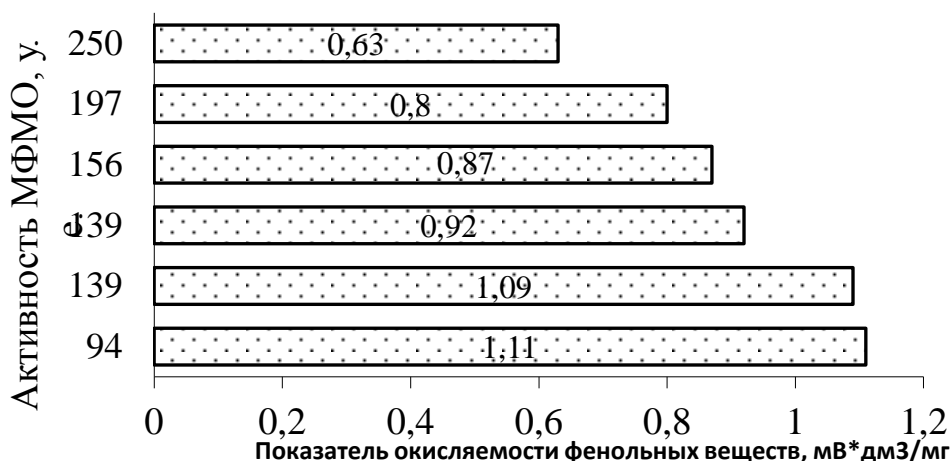


Рис. 4. Зависимость показателя окисляемости фенольных веществ виноматериала от активности МФМО суслу

Выводы. Величина активности МФМО суслу обусловлена содержанием в винограде массовой концентрации сахаров, фенольных веществ ($r=0,77$), величины рН ($r=0,73$). В свою очередь, активность фермента определяет значение показателя окисляемости фенольных веществ виноматериала ($r = - 0,83$) и его органолептические характеристики.

Высокие значения фермента (> 90 у.е.) приводит к интенсификации окислительных процессов стадии суслу, что приводит к снижению качества готовой продукции. Установленные закономерности могут быть использованы при разработке дополнительных мер по регулированию активности МФМО на стадии переработки винограда.

Литература

1. Исследование биохимических и физико-химических показателей винограда технических сортов / Е.В. Остроухова, И.В. Пескова, В.Г. Гержилова, С.А. Ченуша // „Магарач”. Виноградарство и виноделие. – 2008. – № 2. – С. 24–27.
2. Остроухова, Е.В. Создание методологии управления качеством виноградных вин с использованием ферментативного катализа: дис. на соиск. учен. степ. доктора техн. наук: 05.18.05 / Е.В. Остроухова. Национальный институт винограда и вина „Магарач”. – Ялта, 2013. – 285 с.
3. Ткаченко, О.Б. Научные основы совершенствования технологии белых столовых вин путём регулирования окислительно-восстановительных процессов их производства: дис. на соиск. учен. степ. доктора техн. наук: 05.18.05 / О.Б.Ткаченко. - Национальный институт винограда и вина „Магарач” – Ялта, 2010. – 332 с.
4. Червяк, С.Н. Совершенствование технологии хересных виноматериалов для производства хереса столового сухого: дис. на соиск. учен. степ. канд. техн. наук: 05.18.05 / С.Н. Червяк. -Национальный институт винограда и вина „Магарач” – Ялта, 2014. – 208 с.
5. Датунашвили, Е.Н. Исследование инактивации *O*-дифенолоксидазы винограда / Е.Н. Датунашвили, Р.К. Миндадзе // Садоводство, виноградарство и виноделие Молдавии. – 1979. – № 3. – С. 40–41.

6. Гержикова, В.Г. Влияние способа сульфитации на физико-химические показатели хересных виноматериалов / В.Г. Гержикова, С.А. Кишковская, С.Н. Червяк [и др.] // [Магарач. Виноградарство и виноделие](#). – 2011. – № 4. – С. 28-29.
7. Особенности окислительно-восстановительных процессов в белых ликерных винах / В.Г. Гержикова, Н.С. Аникина, Н.В. Гнилomedова, Н.М. Агафонова, С.Н. Червяк, Д.Ю. Погорелов // [Магарач. Виноградарство и виноделие](#). – 2015. – № 4. – С. 41-43.
8. Ермолин, Д.В. Усовершенствование технологии шампанских и игристых вин на основе рационального использования сырья и вспомогательных материалов: дис. на соиск. учен. степ. канд. техн. наук: 05.18.05 / Д.В. Ермолин. - Национальный институт винограда и вина „Магарач” – Ялта, 2011. – 236 с.
9. Миндадзе, Р.К. *o*-дифенолоксидаза винограда и её роль в технологии виноделия: автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. биол. наук: спец. 03.00.04 „Биологическая химия” / Р.К. Миндадзе. – Кишинёв, 1977. – 18 с.
10. Методические указания. "Методика оценки сортов винограда по физико-химическим и биохимическим показателям": РД 0033483,042-2005. – [Действ. с 02.12.2002] – Ялта, ИВиВ "Магарач". – 2005. – 22 с.
11. Методы технохимического контроля в виноделии: [Под ред. Гержиковой В.Г.]. – Симферополь: Таврида, 2009. – 303 с.
12. Энциклопедия виноградарства: в 3-х томах / [под. ред. Тимуш А.И., Субботовича А.С. [и др.]. – Кишинев: Гл. ред. Молд. Сов. энциклопедии, 1986. – Т.2. – С. 235-236.