

## **ЛЕКЦИЯ 2. БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЫРЬЯ В ПРОЦЕССЕ ПРОИЗВОДСТВА ПРОДУКЦИИ (2 часа)**

План:

1. Биохимические изменения сырья в процессе производства продукции: соков, квасов, газированных напитков.
2. Биохимические изменения сырья в процессе производства продукции: солода, пива.
3. Биохимические изменения сырья в процессе производства продукции: вин, коньяков, спирта.
4. Окислительно-восстановительные процессы на различных этапах производства.
5. Биохимия брожения.
6. Ферментные системы дрожжей.

### **1. Биохимические изменения сырья в процессе производства продукции: соков, квасов, газированных напитков.**

#### Квас

При разнообразии способов приготовления хлебного кваса сущность происходящих при этом химических изменений в общем заключается в следующем. Смесь муки и солода с водой, так называемый затор, выдерживается продолжительное время при умеренно высокой температуре в печи, вследствие чего содержащийся в муке или хлебе крахмал под влиянием неорганизованного фермента диастаза, который находится в солоде, превращается в это время в сахар и декстрин. При последующем разбавлении теста водой в чанах и после прибавления дрожжей образовавшийся сахар и другие растворимые части муки и солода подвергаются брожению под влиянием главным образом, двух видов организованных ферментов: спиртово-бродильного грибка и бациллы молочнокислого брожения, результатом чего является образование алкоголя и молочной кислоты. Так как затор не кипятят, сусло долгое время

выдерживается при невысокой температуре и охлаждение происходит медленно, то этим даются все условия для закисания суслу, то есть для развития молочнокислого брожения; несмотря на прибавление дрожжей, алкогольное брожение в сусле происходит лишь в слабой степени, так как спиртово-бродительный грибок не выдерживает вышеописанных условий приготовления суслу, при которых молочнокислое брожение является преобладающим и идёт настолько энергично, что препятствует сильному развитию алкогольного брожения.

По словам признанного эксперта в области пива и безалкогольных напитков на основе хлеба члена-корреспондента РАН Я. Свиридюка, именно этим квас и отличается от пива — исходные материалы и для того, и для другого напитка одинаковы, но способ приготовления различен: при приготовлении пива всё направлено к тому, чтобы предупредить возникновение кислого брожения, для чего затор нагревается до более высокой температуры и охлаждается возможно быстрее, так что спиртовое брожение в пиве является преобладающим, при приготовлении же кваса происходит совершенно обратное.

Кроме названных веществ, молочной кислоты и алкоголя, при брожении возникают и другие побочные продукты, как то: углекислота, кислоты уксусная, муравьиная и др., затем маннит, декстрин, эфиры кислот с алкоголем и пр. вещества, сообщающие квасу его своеобразный вкус. После разлива кваса в бочки и бутылки брожение в нём не останавливается. Образование молочной кислоты энергичнее всего происходит в течение первых 4-5 дней, а затем возникает уксуснокислое брожение; впоследствии чем более возрастает процентное содержание в квасе молочной кислоты, тем медленнее происходит молочнокислое брожение и на первый план выступает брожение уксуснокислое. Чем выше температура помещения бочек с квасом, тем быстрее развивается уксусная кислота.

При приготовлении кваса должны соблюдаться гигиенические нормы: бочки и чаны должны быть тщательно пропариваемы, воду для разбавления суслу следует брать кипячёную — иначе наряду с образованием молочной кислоты возникает маслянокислое брожение, а такой квас при употреблении производит и усиливает развитие масляной кислоты в кишечнике и может служить причиной серьёзных расстройств органов пищеварения. Хранение кваса должно быть обставлено возможно лучшими условиями — чистое, хорошо вентилируемое помещение, чистые бочки. Рационально приготовленный и тщательно сохраняемый квас может оставаться неизменённым в течение 2-3 месяцев. При небрежном хранении в квасе скоро наступают процессы разложения; уксуснокислое брожение выступает на первый план, и квас приобретает неприятный кислый вкус. Иногда квас приобретает свойства тянуться в нити, что зависит от образования особого камедистого вещества; часто квас покрывается грибками плесени. В таком квасе д-р Георгиевский нашёл кислоту жирного ряда, высшего порядка, напоминающую по запаху капроновую.

химический состав хлебного кваса подвержен в разных сортах большим колебаниям. Плотность кваса находится в пределах между 1,002 и 1,0205; количество экстракта колеблется от 0,5 % до 6,330 %. В этом отношении некоторые образцы дешёвого простонародного кваса представляются почти целиком состоящими из воды (99,4—99,5 %). Содержание общего количества кислот изменяется от 0,18 % до 0,53 %; количество же летучих кислот, в пересчёте на уксусную кислоту, колеблется от 0,007 % до 0,110 %. Алкоголя содержится от ничтожных количеств в виде следов до 2,6 %; угольной кислоты от 0,01 % до 0,9 %. В бутылочном квасе содержится обыкновенно больше углекислоты, чем в квасе, разлитом в бочках, что вытекает из самого способа приготовления бутылочного кваса, при котором главная стадия брожения совершается уже по разлитии кваса в бутылки. Содержание сахара подвержено большим колебаниям, смотря по тому, сколько его было прибавлено при приготовлении. Количество золы

находится в зависимости от степени густоты кваса или от количества исходных материалов, и колеблется от 0,1 до 0,385 %. Что касается состава кваса в зависимости от его экстракта, то из приведённой работы д-ра Ильинского видно, что с увеличением зрелости кваса увеличивается количество молочной и уксусной кислот и первые дни более энергично идёт образование молочной кислоты, а затем уксусное брожение является преобладающим. Количество алкоголя так же повышается с возрастом кваса за счёт уменьшения содержащегося в нём сахара. Как видно из данных химического состава кваса, последний представляет напиток, вкусовые свойства которого зависят от содержащихся в нём кислот (молочной, уксусной, угольной и др.), отчасти от алкоголя, а также от пригорелых частей хлеба, сложных эфиров и других веществ. Диетическое значение кваса обуславливается, главным образом, содержащейся в квасе молочной кислотой; она производит успокаивающее действие на нервную систему. Вместе с алкоголем и углекислотой молочная кислота действует некоторым образом на положение обмена веществ в тканях. По расчёту д-ра Ильинского, в госпитальной суточной порции кваса, надлежащим образом приготовленного, больной получает 5,5 г белка и 33 г углеводов, количества, играющие немалую роль в питании больного.

#### Соки

Крупные взвеси состоят из остатков плодовой мякоти и кожицы, каменистых клеток, целых и дробленых семян и т. д. Эти частицы непрочно связаны с жидкой фазой, быстро оседают и легко удаляются механическими методами. Крупные взвешенные частицы ухудшают внешний вид сока, затрудняют его дальнейшую обработку, поэтому их удаляют при производстве всех видов соков без мякоти.

Коллоидно-растворимые вещества длительное время могут находиться во взвешенном состоянии и обуславливают мутность сока. Для получения прозрачного (осветленного) сока необходимо разрушить коллоидную

систему сока и удалить не стойко растворимые коллоиды с диаметром частиц более  $10^{-4}$  мм.

Стойкие коллоиды, если они стабилизированы во взвешенном состоянии, не вызывают в обычных условиях помутнение сока, однако, при хранении возможно их взаимодействие между собой, образование крупных частиц, которые вызывают помутнение сока и образование осадка.

Различают способы осветления соков:

- физические (процеживание, отстаивание, сепарирование);
- биохимические (разрушение коллоидов при обработке ферментами);
- физико-химические — разрушение коллоидной системы соков путем добавления реагентов или путем термического воздействия;
- комбинированные.

Биохимические способы осветления соков

Эти способы основаны на разрушении коллоидных веществ, вызывающих мутность сока (пектиновых веществ, крахмала, белков, полифенольных веществ).

Пектиновые вещества обладают водоудерживающей способностью, образуют гидратную оболочку вокруг взвесей, действуют как защитные коллоиды для взвешенных частиц, задерживают их выпадение в осадок и увеличивают вязкость сока. Поэтому разрушение молекулы пектина способствует отделению и оседанию частиц.

Для осветления соков используют пектолитические ферментные препараты. Под их действием пектиновая молекула разрушается до растворимых в воде галактуроновых кислот. Для этой цели используют, например, ферментный препарат Пектофоетидин П10Х. Этот препарат содержит, кроме пектолитических и протеолитических ферменты. Обработку можно проводить периодическим и непрерывным способом. В отечественной промышленности преобладает периодический способ обработки.

В сок вносят ферментный препарат в количестве 0,02.. .0,03 % в виде суспензии. Доза вносимого препарата зависит от содержания пектина в соке,

pH и температуры. Для достижения необходимого результата следует соблюдать оптимальные условия действия препарата: pH 3,7...4,0; температура обработки 40...50 ЭС; продолжительность обработки составляет 1 ч при перемешивании. При таких условиях разрушается более 50 % пектина и сок осветляется. Если необходима полная депектинизация, то процесс продолжается более длительное время.

Если мутность сока обусловлена наличием крахмала, то используют амилолитические ферментные препараты. Крахмал содержат соки из летних и незрелых сортов яблок. При тепловой обработке большая часть крахмала клейстеризуется, переходит в раствор и при розливе и хранении может вызвать помутнение сока за счет образования комплексов с полифенолами. Для обработки таких соков используют амилолитические ферментные препараты, например, Амилоризин П10х. Условия обработки: температура 50 °С; pH 4,5...5,5.

При наличии в соке пектиновых веществ и крахмала рекомендуется использовать как пектолитические, так и амилолитические ферменты.

Оптимальную дозу вносимого препарата определяют на основании пробного осветления. Сначала определяют наличие в соке пектина (по спиртовой пробе) и крахмала (по иодной пробе). Затем по количеству образовавшегося сгустка или по интенсивности окраски определяют дозу вносимого препарата. Правильность выбранной дозы проверяют пробным осветлением в пробирках.

Недостатком ферментативного метода осветления является периодичность и длительность обработки (1...2 ч). В последние годы появились работы по непрерывным способам обработки соков. С этой целью используются ферменты, зафиксированные на твердых носителях (иммобилизованные). Нерастворимые комплексы «фермент-носитель» стабильны и сохраняют каталитические свойства ферментов. В качестве носителей используют неорганические и органические вещества. Обработку проводят в специальных реакторах.

## 2. Биохимические изменения сырья в процессе производства продукции: солода, пива.

### Солодоращение

Процесс проращивания ячменя протекает при сравнительно низкой температуре, достаточно далеко отстоящей от оптимального действия многих ферментов, поэтому проявление их активности хотя и наблюдается, но все ферментативные процессы происходят замедленно и достигаемый при этом распад веществ ячменя часто относительно небольшой. Так, например, крахмал претерпевает только слабый гидролиз (распад в пределах 5%). Исключение составляют белковые вещества, которые подвергаются значительному распаду (до 20%), превышающему распад при затирании солода, что обусловлено более низкими температурами действия протеолитических ферментов, чем амилолитических, для которых высокие температуры затирания солода являются более благоприятными.

Распад углеводов. Группа веществ, объединяемых под названием «углеводы», имеет особое значение при соложении; они являются субстратом для дыхания и источником энергии для синтеза ферментов, часть углеводов играет отрицательную роль в процессе растворения эндосперма зерна.

Крахмал. Трата указанного выше количества крахмала связана с формированием зачатков новых вегетативных частей будущего растения, в частности с образованием корешков, которые удаляются после сушки солода, и дыханием. Уменьшение количества крахмала при солодоращении (по дням проращивания зерна) характеризуется следующими данными:

| Ячмень           | Количество крахмала, % на сухое вещество |
|------------------|--|
| Исходный         | 61,65                                    |
| Замоченный       | 62,47                                    |
| Пророщенный, дни |  |
| 1                | 61,67                                    |
| 2                | 62,07                                    |
| 3                | 61,58                                    |
| 4                | 59,63                                    |
| 5                | 59,83                                    |
| 6                | 59,65                                    |
| 7                | 57,30                                    |

Свойства крахмала солода отличаются от свойств крахмала ячменя. Во время солодоращения несколько меняется соотношение амилозы и амилопектина, температура клейстеризации повышается, уменьшается величина крахмальных зерен. Английские исследователи Гринвуд и Томсон сравнивали крахмал ячменя сорта Имер с крахмалом солода, полученного из того же ячменя. Сравнительные данные приведены в табл.

Таблица 39

| Ячмень       | Содержание крахмала в зерне, % на сухое вещество | Содержание амилозы в крахмале, % | Температура клейстеризации крахмала, °С | Средний диаметр крахмальных зерен, мкм |
|--------------|--|----------------------------------|---|--|
| Несоложенный | 64   | 22,4                             | 59,0—64,5                               | 21                                     |
| Соложенный   | 58   | 26,0                             | 64,8—67,5                               | 17                                     |

Кроме того, исследователи установили, что солодовая амилоза имеет меньшую плотность, чем амилоза ячменного крахмала, и высокую степень активности  $\beta$ -амилолиза, в то время как у исходного крахмала степень активности  $\beta$ -амилолиза очень слабая. Отмечены различия и в амилопектине; внутренние цепи обоих амилопектинов одинаковые, но внешние цепи у солодового амилопектина короче, причем солодовый амилопектин частично распадается под действием  $\beta$ -амилазы.

Как упоминалось выше, в ячменном зерне часть сахаров уже находится в свободном состоянии. При солодоращении гидролизу подвергается сравнительно небольшая часть крахмала с образованием мальтозы. Мальтоза в свою очередь подвергается действию мальтазы, в результате чего образуется глюкоза, которая расходуется в процессе дыхания с образованием необходимой для жизненных процессов энергии, а также — на синтетические процессы в зародыше, в нем начинают образовываться зародышевый листок и корешки. Имеющийся запас сахаров (сахароза, рафиноза, глюкодифруктоза) используются в начале процесса

солодоращения, и этот запас восполняется в последующие дни путем гидролиза крахмала.

Качественный состав сахаров меняется. В табл. показаны изменения содержания сахаров во время соложения (по Гаррису, Галю и Мак Вильяму). Количество сахарозы сначала снижается, а в последующие дни солодоращения увеличивается и к концу процесса накапливается в солоде в довольно значительных количествах. Запасы же рафинозы и глюкодифруктозы истощаются, и в готовом солоде эти сахара уже не обнаруживаются. С конца замочки начинает накапливаться в прорастающем зерне мальтоза, количество которой в начале рашения повышается, достигает на шестой день максимума, а затем понижается. С этого же периода отмечается образование мальтотриозы. Постепенно повышается содержание фруктозы и глюкозы.

Таблица 40

| Углеводы         | Содержание углеводов, г на 1000 зерен ячменя при продолжительности соложения в днях |         |       |               |       |       |       |       |       | В солоде с ростками |
|------------------|---|---------|-------|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|---------------------|
|                  | исходное  | замочка |       | солодоращение |       |       |       | сушка |       |                     |
|                  |   | 1       | 3     | 1             | 2     | 4     | 9     | 1     | 2     |                     |
| Фруктоза         | 0,027   | 0,012   | 0,042 | 0,100         | 0,097 | 0,132 | 0,145 | 0,189 | 0,297 | 0,262               |
| Глюкоза          | 0,016   | 0,012   | 0,031 | 0,065         | 0,143 | 0,173 | 0,178 | 0,238 | 0,300 | 0,285               |
| Сахароза         | 0,301   | 0,208   | 0,265 | 0,276         | 0,370 | 0,540 | 0,624 | 0,519 | 0,965 | 0,755               |
| Мальтоза         | —   | —       | 0,012 | 0,026         | 0,147 | 0,179 | 0,123 | 0,116 | 0,103 | 0,109               |
| Глюкодифруктоза  | 0,033   | 0,040   | 0,047 | 0,029         | —     | —     | —     | —     | —     | —                   |
| Рафиноза         | 0,058   | 0,054   | 0,050 | 0,014         | —     | —     | —     | —     | —     | —                   |
| Мальтотриоза     | —   | —       | —     | —             | —     | 0,052 | 0,063 | 0,069 | 0,055 | 0,059               |
| Крахмал          | 25,0  | 25,5    | 25,2  | 24,9          | 24,7  | 22,4  | 20,7  | 21,0  | 21,0  | 21,63               |
| Масса 1000 зерен | 39,10   | 39,16   | 38,70 | 38,55         | 38,90 | 37,60 | 37,05 | 37,16 | —     | 37,10               |

Наиболее заметно повышается содержание сахарозы, которая является источником энергии растущего организма. Исчезновение рафинозы в первый период солодоращения в основном обусловлено потреблением ее при замочке начинающим пробуждаться к жизни зародышем; она является типичным запасным сахаром.

И.Я. Веселов и В.А. Зенченко, которые исследовали изменение сахаров при солодоращении ячменя сорта Нахичеванданы, установили, что суммарное количество сахаров увеличивается от 0,117 до 1,133%; содержание непосредственно восстанавливающих сахаров повышалось от

0,013 до 0,32%, а количество мальтозоподобных сахаров — от 0,018 до 0,707%. Вместе с тем изменяется соотношение между отдельными группами сахаров. Если в зерне ячменя преобладала сахароза, на втором месте была рафиноза, а мальтоза занимала третье место, то в солоде рафиноза совсем исчезла, а сахароза и сахара, близкие к мальтозе, по количеству обменялись местами; содержание мальтозоподобных сахаров составляло 63%, а сахарозы — 36%.

### Пивоварение

Основным процессом затираания является гидролиз крахмала, расщепляющийся амилолитическими ферментами до сбраживаемых сахаров (глюкозы, мальтозы) и декстринов различной молекулярной массы, обеспечивающих полноту вкуса пива. На скорость ферментативных реакций оказывают влияние температура, рН и концентрация затора. С повышением температуры затора до оптимального предела ферментативный гидролиз крахмала ускоряется. Дальнейшее повышение температуры вызывает инактивацию ферментов и замедляет процесс. Влияние температуры на соотношение продуктов гидролиза крахмала объясняется различным температурным оптимумом и разной термоустойчивостью отдельных амилаз. В зависимости от качества солода и сорта приготавливаемого пива требуемый гидролиз крахмала обеспечивается выдержкой затора при следующих температурных паузах мальтозной при 61—63 °С (оптимальной для действия β-амилазы солода и глюкоамилазы ферментных препаратов), благоприятной для накопления сбраживаемых сахаров, осахаривания при 70—72 °С (оптимальной для действия α-амилазы), обеспечивающей расщепление крахмала до декстринов (при этом β-амилаза и глюкоамилаза инактивируются), общего осахаривания при 75—77 °С, являющейся предельной температурой, при которой сохраняется активность α-амилазы (при этой температуре затор выдерживается до полного осахаривания крахмала, определяемого по йодной пробе).

На активность ферментов значительно влияет также рН затора. Оптимум рН для действия амилаз и других ферментов солода лежит в пределах 5,5—5,7. Величина рН затора зависит от перерабатываемого зернового сырья и применяемой воды. Для пивоварения оптимальной является вода общей жесткостью 0,7—1,1 мгэкв/дм<sup>3</sup>. Для создания оптимального значения рН в затор добавляют молочную кислоту или гипс. Более эффективно подвергать воду специальной подготовке.

Очень важным для пивоварения является гидролитическое расщепление белков под действием протеолитических ферментов. Превращение белковых веществ и их состав при затирации имеют большое значение для качества пива. Они влияют на пенообразование, стойкость и вкусовые качества пива. А такие продукты распада белков, как пептиды и аминокислоты, необходимы для питания и размножения дрожжей. Основной процесс расщепления белков протекает при солодоращении, а при затирации процесс распада их под влиянием протеолитических ферментов проходит не так глубоко. Главными продуктами расщепления белков являются растворимые в воде белки, пептоны и полипептиды; аминокислот образуется сравнительно мало.

При затирации в сусло практически переходит около трети всех азотных веществ солода, причем около половины этого количества было переведено в растворимое состояние во время солодоращения. Белки, которые не подверглись превращениям при солодоращении и затирации, переходят в дробину. Наибольшую активность при затирации проявляют протеиназы, гидролизуя белки зерна до сложных полипептидов. Дальнейший гидролиз полипептидов до пептидов и аминокислот осуществляют полипептидазы, которые значительно инактивируются при сушке солода. Накопление тех или иных продуктов гидролиза белков зависит от температуры затора. Для накопления аминокислот и низкомолекулярных пептидов наиболее благоприятной является температура 45—52 °С (белковая пауза).

При температуре 61–63 °С (мальтозная пауза) происходит гидролиз белков с образованием полипептидов и высокомолекулярных пептидов, способствующих пенообразованию и созданию полноты вкуса пива. Азотные вещества сусла принято разделять на стойкорастворимые и нестойкорастворимые (коагулируемые). Стойкорастворимые азотные вещества во время кипячения не выделяются из сусла. К ним относятся аминокислоты, пептиды и часть растворимых белков. Настоящие белки при кипячении из растворов коагулируют, их называют нестойкорастворимыми веществами.

Для нормального брожения сусла и получения стойкого с хорошим пенообразованием пива необходимо, чтобы в 100 см<sup>3</sup> сусла с экстрактивностью 11–12 % содержалось 75—100 мг общего азота, из них 25—30 мг аминного азота. По Лундину, соотношение фракций А:В:С должно составлять в сусле 3:2:4,5; в пиве 1:1,5:6,5.

При затирании происходит также гидролиз гемицеллюлоз и гумми-веществ зернопродуктов под действием цитолитических ферментов солода с образованием глюкозы, ксилозы, арабинозы и низкомолекулярных полисахаридов. В результате цитолитических процессов снижается вязкость сусла, что улучшает фильтрование затора и увеличивает содержание углеводов в сусле.

Под действием фермента фитазы в солоде происходит расщепление фосфорорганических соединений с накоплением в сусле неорганических фосфатов и инозита, которые необходимы для питания дрожжей и стимулирования их роста и размножения. Оптимальные условия действия цитолитических и фосфоролитических ферментов совпадают с белковой паузой (45–52 °С).

Брожение – сложный биохимический процесс, во время которого под действием ферментов пивных дрожжей сбрасывается основное количество углеводов сусла. Существуют верховое и низовое брожение. Они отличаются применяемыми расами дрожжей и температурным режимом.

Низовое брожение протекает обычно при 6–10 °С, верховое – при 14–25 °С. Оба типа брожения протекают в две стадии: первую принято называть главным брожением, вторую – дображиванием. Главное брожение характеризуется более или менее интенсивным сбраживанием большей части сахаров сусле; дображивание – медленным сбраживанием оставшихся сахаров, осветлением, созреванием пива и насыщением его диоксидом углерода.

Главное брожение характеризуется биологическими, биохимическими и физико-химическими процессами.

К биологическим процессам относится размножение дрожжей. В пивном сусле содержатся все питательные вещества, необходимые для нормального размножения и развития дрожжей. Наиболее интенсивное размножение дрожжей происходит на начальной стадии главного брожения. В условиях ведения главного брожения одновременно осуществляется как размножение дрожжей, так и брожение. Но при нормальном брожении размножение дрожжей заканчивается задолго до конца брожения. Биомасса дрожжей увеличивается в 3–4 раза.

Основным биохимическим процессом при главном брожении является превращение сбраживаемых сахаров в этанол и диоксид углерода. Большая часть экстракта сусле состоит из углеводов, в состав которых входят (%): фруктоза – 1–3, глюкоза – 8–10, сахароза – 2–6, мальтоза – 38–50, мальтотриоза – 11–19, мальтотетраоза – 2–6, декстрины – 14–22. Из них сбраживаются глюкоза, фруктоза, сахароза, мальтоза и мальтотриоза, т. е. наибольшая часть экстракта (75 %) состоит из сбраживаемых сахаров.

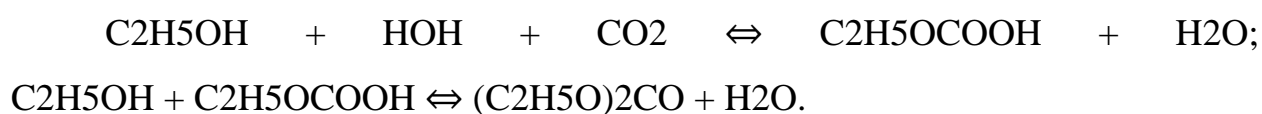
Несбраживаемая часть экстракта представлена главным образом декстринами, белками и минеральными веществами. Сбраживание отдельных сахаров происходит в определенной последовательности и обусловлено скоростью их проникновения в дрожжевую клетку. Быстрее всех сбраживаются фруктоза и глюкоза. Сахароза инвертируется из сусле еще в начале брожения. Она гидролизуются

$\beta$ -фруктофуранозидазой, локализованной в цитоплазме дрожжевой клетки с образованием глюкозы и фруктозы, которые легко используются клеткой. Когда в сусле почти не останется фруктозы и глюкозы, дрожжи начинают потреблять мальтозу, которая под действием фермента  $\alpha$ -глюкозидазы превращается в легкображиваемую глюкозу. Мальтоза почти полностью сбраживается при главном брожении.

Мальтотриозу дрожжи лишь частично сбраживают при главном брожении и медленно потребляют ее при дображивании. В сусле, богатом мальтозой, мальтотриоза может остаться несброженной.

Часть углекислоты вступает в химическое взаимодействие с аминокислотами и этанолом. При этом образуются углекислые эфиры. Резкое отличие букета готового пива от букета молодого пива отчасти объясняется присутствием углекислых эфиров.

Реакция образования диэтилового эфира угольной кислоты представлена следующими уравнениями:



Эфирные соединения углекислоты непрочны. При изменении условий выдержки пива в лагерном отделении или при физическом воздействии указанная равновесная система нарушается в сторону распада образовавшегося сложного эфира. Таким образом, углекислота находится в пиве в растворенном и связанном состояниях. Между отдельными формами углекислоты существует следующее подвижное равновесие:

$\text{RCO}_2 \rightleftharpoons \text{R} + \text{CO}_2$  (растворенная)  $\rightleftharpoons \text{CO}_2$  (газ), где  $\text{RCO}_2$  — связанная углекислота.

Коллоиды имеют большую адсорбционную поверхность. Положительно заряженные коллоиды пива адсорбируют на своей поверхности кислоты, в том числе углекислоту. Таким образом, соли коллоидов обуславливают метастабильное состояние диоксида углерода, чем и объясняется медленное выделение его из пива. При встряхивании пива

метастабильное состояние нарушается, начинается быстрое и бурное выделение углекислоты.

### **3. Биохимические изменения сырья в процессе производства продукции: вин, коньяков, спирта.**

#### Белые сухие вина

Окисление суслу и экстракция различных компонентов из твердых элементов грозди протекают с момента раздавливания ягод на всех последующих этапах приготовления вина. Скорость и направленность окислительно-восстановительных процессов, в которые вовлекаются все группы веществ суслу – фенольные соединения, азотистые вещества, органические кислоты и другие, зависят от стадии приготовления вин и обусловлены в основном поглощением кислорода.

После раздавливания ягод и разрыва клеточных тканей кожицы усиливается и гидролизующее действие ферментов, содержащихся в ягоде. Это приводит к распаду части полифенолов, гидролизу белков и пектина с образованием легкорастворимых продуктов. В результате этих процессов уменьшается концентрация в сусле высокомолекулярных соединений, способных к структурообразованию, вязкость сока понижается, облегчается отделение его от твердых частиц мезги и увеличивается общий выход суслу.

Скорость и полнота ферментации мезги зависит от степени дробления ягод. Поэтому при производстве малоокисленных натуральных сухих вин необходимо избегать чрезмерного дробления ягод и ограничивать продолжительность контакта суслу с мезгой.

Важное место среди веществ, оказывающих существенное влияние на основные органолептические показатели вина (аромат, вкус, цвет) занимают азотистые соединения и, прежде всего, аминокислоты.

Аминокислотный состав вина формируется за счет аминокислот суслу и аминокислот, выделяемых дрожжевыми клетками в результате жизнедеятельности и при автолизе в процессе брожения и особенно после его

окончания. Суммарное содержание аминокислот в соке винограда колеблется в пределах 246-2442 мг/дм<sup>3</sup>, что составляет 20% от их общего количества в грозди; остальные аминокислоты сосредоточены в гребнях (до 30%), семенах – (30%) и кожице (20%). В начале созревания винограда образуются аргинин, глутаминовая и аспарагиновая кислоты, серин, составляющие 80% всех аминокислот.

В процессе дальнейшего созревания появляются валин, гистидин, треонин и др. алифатические аминокислоты, и на заключительной стадии – пролин, фенилаланин, тирозин, триптофан.

В винограде и продуктах его переработки идентифицировано 32 аминокислоты, в том числе такие редкие, как норвалин, пипеколиновая и оксипипеколиновая кислоты.

Количественный и качественный состав аминокислот в отдельных сортах винограда варьирует в широких пределах и зависит от почвенно-климатических условий, вносимых удобрений, агротехники, а в сусле он определяется также технологией переработки винограда, длительностью контакта его с твердыми элементами грозди и кислородом воздуха.

Общее количество аминокислот в натуральных белых сухих винах составляет 50-60% от содержащихся в сусле.

Поэтому производство натуральных сухих вин, в которых недопустимо появление тонов окисленности, предусматривает снижение уровня ОВ-потенциала путем создания анаэробных условий, ингибирования окислительных ферментов с помощью диоксида серы, удаления железа и меди, а также путем использования восстановительного действия дрожжей, содержащих комплекс ферментов, ароматобразующих и др. веществ, выделяемых в вино при автолизе. Особое значение имеет глутатионредуктаза, восстанавливающая окисленный глутатион. При этом в вине развивается тонкий букет, улучшается вкус.

Аминокислоты играют активную роль в реакциях окислительного дезаминирования с последующим декарбоксилированием, в результате чего

образуются альдегиды, способные сообщать натуральному вину несвойственные ему тона.

Обогащение вина аминокислотами может происходить за счет автолиза дрожжей, а также в результате гидролиза пептидов и белков под действием ферментов.

Дальнейший период жизни вина – созревание – происходит при доступе кислорода во время выдержки вина и обеспечивает развитие в нем органолептических качеств и придание стабильности. Он характеризуется наряду с ОВ-процессами, реакциями этерификации, распада, конденсации, а также физическими (экстракция, испарение), биохимическими, физико-химическими (полимеризация, образование и выделение коллоидных и кристаллических осадков) процессами.

За период созревания натурального белого сухого вина количество поглощенного кислорода не должно быть более 30 мг/дм<sup>3</sup>.

Значительные изменения происходят в качественном и количественном составе аминокислот. Аминокислоты подвергаются дезаминированию и декарбоксилированию с образованием альдегидов и других соединений с карбонильной и оксигруппой.

Все группы фенольных соединений активно участвуют в окислительно-восстановительных процессах, в реакциях конденсации, взаимодействия с аминокислотами, альдегидами.

Особенно важна их роль на стадии инициирования в свободнорадикальном сопряженном окислении различных составных веществ вина.

Окисление катехинов сопровождается как их конденсацией с образованием веществ с большой молекулярной массой, так и разрушением до CO<sub>2</sub> и воды, что приводит к постепенному исчезновению свободных катехинов. Окисленные высококонденсированные продукты катехинов и их комплексы с белками выпадают в осадок. Катехины и продукты их конденсации способны реагировать с аминокислотами, органическими

кислотами, альдегидами, металлами (Fe , Ca , K), сернистой кислотой с образованием труднорастворимых соединений.

Концентрация некоторых металлов – K , Ca , Mg – уменьшается также вследствие выпадения в осадок их солей с винной кислотой.

Поэтому при выдержке натуральных сухих вин, для которых недопустимо наличие окисленных тонов во вкусе и букете, доступ кислорода воздуха к вину ограничивают, при этом скорость его поступления в вино и связывания в нем уравниваются.

Если требуется ускорить созревание вина, допускается кратковременная их обработка теплом при температуре 35-40°C обязательно в строго анаэробных условиях.

Кроме того, для быстрого формирования органолептических качеств вина и ускорения выделения веществ способных вызывать помутнение вин, используют и другие технологические приемы – оклейку, обработку минеральными осветлителями, холодом, фильтрацию, электрофизические способы обработки, доливки, переливки и др.

### Коньяк

Наиболее важные для коньячного производства соединения возникают при брожении осветленного виноградного сусла. К ним относятся высшие спирты, образующиеся из аминокислот и углеводов в присутствии ферментов дрожжей, альдегиды и эфиры.

Некоторые аминокислоты – лейцин, изолейцин, валин, фенилаланин, тирозин, триптофан в результате гидролитического или окислительного дезаминирования синтезируют высшие спирты. Биосинтез высших спиртов протекает также путем переаминирования аминокислот, в частности, изучен механизм переноса аминогруппы с лейцина, изолейцина, валина, тирозина, триптофана и фенилаланина на альфа-кетоглутаровую кислоту.

Регулированию синтеза высших спиртов в коньячном спирте при брожении способствуют оптимальная температура и кислородный режим процесса. Установлено, что при температуре 18-20°C происходит накопление

высших спиртов, а при дальнейшем росте температуры содержание их снижается.

Наибольшее количество высших спиртов образуется при средней интенсивности аэрации, т.к. кислород угнетает процесс брожения.

Накопление высших спиртов в коньячном виноматериале зависит и от расы дрожжей. *Saccharomycesoviformis*, например, образуют больше высших спиртов, чем *SaccharomycesVini*, *SchizosaccharomycesMalicodevoratus* и *Torulopsis*.

Остаточный сахар в коньячных виноматериалах служит причиной развития микроорганизмов и повышенного содержания летучих кислот.

Главным способом образования и регулирования химического состава коньячного спирта, который в наибольшей степени определяет качество будущего коньяка, является перегонка виноматериалов.

Принято делить дистиллят на три фракции – головную, среднюю и хвостовую, каждая из которых содержит различные соединения, отличающиеся температурой кипения.

Процесс перегонки позволяет не только выделить спирт, но и обогатить его летучими компонентами перегоняемого виноматериала и образующимися при высокой температуре в кубе.

В головную фракцию переходят, главным образом, низкокипящие летучие вещества виноматериала – сложные эфиры уксусной и масляной кислот, эфиры, высшие спирты, летучие кислоты. Однако этот процесс имеет сложный характер и зависит от многих факторов, которые не всегда поддаются учету. О поведении летучих компонентов виноматериала при перегонке можно судить по величине коэффициента ректификации, который показывает, насколько легко по отношению к этиловому спирту перегоняется тот или иной компонент.

Если коэффициент ректификации больше единицы, примесь испаряется быстрее этанола и накапливается в головной фракции; в то же время, в хвостовую фракцию переходит вещество, если его коэффициент

ректификации меньше единицы. Когда коэффициент ректификации равен единице, примеси перегоняются одновременно с этиловым спиртом, и очистки коньячного спирта не происходит. Определены типичные головные примеси (уксусный, масляный, изомасляный альдегиды, муравьино-этиловый, уксусно-метиловый, уксусно-этиловый эфиры и другие компоненты), обладающие большей летучестью, чем этиловый спирт при всех его концентрациях в растворе, и типичные хвостовые (уксусная кислота, фурфурол), коэффициенты ректификации которых меньше 1 во всем диапазоне изменения концентрации этилового спирта от 0 до азеотропной точки.

Поведение промежуточных компонентов с изменением концентрации этилового спирта меняется. При низких концентрациях этилового спирта их коэффициенты ректификации больше 1, и они являются головными компонентами; при высоких концентрациях этилового спирта их коэффициент ректификации меньше 1, и они приобретают характер хвостовых компонентов. Это масляный альдегид, ацеталь, муравьино-этиловый эфир, метанол и т.п.

Летучесть отдельных веществ смеси характеризуется коэффициентом испарения, который представляет собой отношение концентрации данного вещества в паровой фазе к концентрации его в жидкой фазе при нахождении их в равновесном состоянии.

Использование коэффициентов испарения и ректификации дает возможность определять и регулировать в зависимости от спиртуозности перегоняемой жидкости условия накопления в дистилляте тех или иных летучих веществ.

Например, перегонка коньячных виноматериалов на спирт-сырец при атмосферном давлении (содержание спирта от 12,2% об. до 0,03% об.) позволяет частично очистить дистиллят от метилового, бета-фенилэтилового спиртов, уксусной и масляной кислот. В то же время остальные примеси будут головными.

При фракционной перегонке спирта-сырца (спиртуозность снижается с 30,5% об. до 0,03% об.) в первоначальный момент сгонки, связанной с отбором головного погона, дистиллят будет обогащаться метиловым спиртом, уксусным альдегидом, этиловыми эфирами уксусной и каприновой кислот. Вместе с тем изоамиловый спирт и этиловый эфир молочной кислоты являются промежуточными примесями. И только в дальнейшем, по мере снижения спиртуозности перегоняемой жидкости они приобретают характер головных.

В отличие от констант фазового равновесия для идеальных систем коэффициенты испарения этилового спирта и других компонентов меняются с изменением содержания спирта в жидкой фазе.

Если содержание этилового спирта в кипящей жидкости менее 55% об., то большинство летучих компонентов – изоамиловый спирт, изоамилизовалериат, амилацетат, этилацетат, метилацетат, акролеин и другие – перегоняются в головную фракцию.

В общем виде можно утверждать, что при более высокой концентрации этилового спирта температура кипения снижается и в дистиллят переходит меньшее количество летучих кислот. С уменьшением концентрации спирта к концу перегонки переход летучих кислот в отгон усиливается.

Наибольшие трудности при проведении процесса перегонки вызывает поведение промежуточных компонентов.

Коэффициенты ректификации в определенной степени позволяют установить порядок перехода различных летучих соединений в дистиллят и барду при перегонке, однако не дают полной расшифровки протекающих процессов. Коэффициенты испарения и ректификации не учитывают совместного нахождения в смеси многих компонентов, степени их взаимной растворимости и растворимости в водно-спиртовых растворах. Вещества, плохо растворимые в спирте-сырце и в виноматериале (эфиры жирных кислот, высшие спирты), перегоняются значительно интенсивнее, чем этанол в определенном диапазоне его концентрации, хотя имеют более высокую

температуру кипения, и, наоборот, хорошо растворимые соединения (метанол, этиллактат, летучие кислоты) перегоняются медленнее, чем этанол. Здесь сказывается сродство этилового спирта и воды. Почти все рассматриваемые вещества хорошо растворимы в чистом спирте и плохо или почти нерастворимы в воде. Эти вещества имеют молекулярную массу больше молекулярной массы воды, и при малом содержании спирта происходит перегонка взаимно нерастворимых веществ (несмешивающихся жидкостей). Как известно, температура кипения смеси в этом случае всегда ниже температуры кипения чистых компонентов. С увеличением крепости спирта увеличивается растворимость компонентов, уменьшается давление и компонент становится менее летуч.

Одновременно с перегонкой в кубе происходит образование альдегидов, спиртов, кислот, эфиров летучих фенолов и других соединений. Окисление спиртов, прежде всего этилового, приводит к образованию альдегидов – уксусного, изобутилового, изоамилового, бензилового, бета-фенилэтилового и других. Окислительное дезаминирование и последующее декарбоксилирование аминокислот служит источником образования альдегидов, которые содержат на 1 углеродный атом меньше, чем исходная аминокислота.

Возникновение летучих компонентов особенно интенсивно проходит в медных и железных кубах. В этом случае материал куба, так же как и кислотность вина и дрожжевые автолизаты являются важными факторами, усиливающими процесс накопления летучих веществ.

При перегонке коньячных виноматериалов в медных кубах по сравнению с покрытыми луженым серебром или оловом образуется эфиров на 60-100%, альдегидов на 10-15%, фурфурола на 150-200% больше, а дегидратация пентоз протекает полностью.

Существенное влияние на образование летучих веществ при перегонке оказывает продолжительность процесса дистилляции.

Интенсивное влияние на новообразование альдегидов и эфиров оказывает кислотность вина, при этом в кислой среде в присутствии оксикислот могут образовываться лактоны. При нейтрализации вина наблюдается уменьшение количества ацеталей.

Обогащение аминокислотного состава перегоняемого виноматериала путем внесения дрожжевой биомассы или дрожжевых автолизатов приводит к образованию сложных эфиров (этилизобутират, этилизовалериат, этилкапронат, этиллактат, изоамилацетат), высших спиртов (от гексанола до деканола), алифатических альдегидов и других летучих компонентов, участвующих в развитии тонкого букета и вкуса коньяка.

Таким образом, молодой коньячный спирт включает в свой состав большое число соединений – высшие спирты (свыше 10 компонентов), сложные эфиры (свыше 20), алифатические альдегиды (более 10), жирные кислоты (около 10), терпеноиды. В молодом коньячном спирте присутствуют и такие соединения фурановой и пирановой природы, как 5-метил-4-окси-3(2H)-фуранон, 3-окси-2-пиранон и 3,5-диокси-6-метил-4-пиранон, которые образуются при дистилляции.

Решающее значение для формирования коньяка как напитка с присущими ему своеобразным вкусом и ароматом имеет выдержка коньячного спирта в дубовой таре.

Физические процессы при выдержке коньячного спирта представлены экстракцией спиртом компонентов древесины дуба, его поглощением дубовой клепкой и испарением. Величина поглощения определяется пористостью древесины, температурой, крепостью спирта, удельной площадью поверхности бочки. Скорость поглощения возрастает с увеличением давления и снижается по мере роста, вязкости старых спиртов.

Интенсивность испарения зависит от скорости поглощения спирта древесиной дуба, температуры, наличия трещин и микроотверстий в бочке и влажности воздуха. Если относительная влажность ниже 70%, то скорость испарения воды превышает скорость испарения спирта. При относительной

влажности выше 70% будет иметь место преимущественное испарение спирта. При 70% относительной влажности скорости испарения воды и спирта равны, в этом случае наблюдается уменьшение объема спирта без снижения его крепости. Повышению скорости испарения способствует и большой воздухообмен в помещении.

Интенсивность экстрагирования веществ из дубовых клепок коньячным спиртом усиливается при понижении его рН и возрастании температуры выдержки. При этом экстрагируются соединения из слоя клепок толщиной до 1 мм, хотя смачивание проходит на большую глубину – 8-12 мм. В более глубокие слои спирт диффундирует в парообразном состоянии.

В процессе выдержки молодого коньячного спирта в контакте с древесиной дуба из нее извлекаются различные вещества, которые затем связываются под воздействием кислорода в химические соединения, придающие коньякам специфические аромат и вкус.

В состав компонентов древесины дуба входят целлюлоза, пентозаны (ксилан и арабан), гексозаны (маннан, глюкан, галактан), гемицеллюлоза и полиуроновые кислоты (глюкуроновая и галактуроновая), липоиды, пектин, камеди, а также таниды, природные красящие вещества, летучие масла, смолы, летучие кислоты, растворимые полисахариды, азотистые вещества, минеральные элементы.

В древесине дуба содержатся нелетучие вещества (эллаготанины, катехиновые танины, экстрагируемые полифенолы), а также активно участвующие в сложных химических реакциях, влияющих на органолептические показатели коньячного спирта летучие компоненты – метилокталактон, эвгенол и ванилин.

Азотистые вещества являются одним из основных компонентов дубовой древесины и принимают участие в сложении букета коньяка. Некоторые аминокислоты – гликол, глутаминовая кислота, фенилаланин, пролин, альфа-аланин экстрагируются из древесины и, вступая в различные

окислительные реакции, образуют альдегиды, обладающие характерным, часто очень приятным ароматом.

Из липидов наиболее полно обнаруживаются сложные эфиры пальмитиновой, линолевой и эйкозадекановой кислот, а также эфиры триглицеридов и стеролов. В экстрактах древесины дуба найдены также холестерин и стигмастерин.

Среди веществ, экстрагируемых из древесины, в наибольшем количестве представлены дубильные вещества, лигнин, редуцирующие сахара, и в меньшей степени – аминокислоты, липиды, летучие кислоты и масла, смолы, а также ферменты.

Древесина дуба содержит природные гидролизуемые фенольные вещества, представляющие собой полиэфиры фенолкарбоновых кислот и сахаров, и конденсированные, у которых молекулы соединены одна с другой углеродными связями.

Конденсированные дубильные вещества составляют многочисленную группу и представлены ароматическими спиртами и альдегидами, оксibenзойными кислотами – галловой, протокатеховой, ванилиновой, сиреневой, бета-резорциновой и другими. К этой группе принадлежат также кумарин и его гликозиды, оксикоричная, феруловая, хлорогеновая, кофейная кислоты и их производные, фенольные спирты – кониферилловый, кумариновый, которые образуют полимерные соединения типа лигнина, флавоноиды, катехины и лейкоантоцианы.

Характерным свойством фенольных соединений является способность к окислению, которая возрастает за счет ферментов древесины – глюкозидазы и полифенолоксидазы. Окислительные процессы в коньячном спирте проходят по свободно радикальному механизму с участием радикалов, количество которых по мере созревания спирта увеличивается в 3-5 раз.

Начало окислительного процесса характеризуется автоокислением органических соединений коньячного спирта с накоплением пероксидов и

гидропероксидов. Одновременно с возникновением радикалов происходит их рекомбинация. Эти превращения определяются как цепные свободно-радикальные процессы с вырожденными разветвлениями. На начальном этапе происходит образование свободных радикалов, инициирующих цепные реакции. Часть молекул гидропероксидов распадаются на радикалы, а остальные реагируют ионным или молекулярным путем. Образующиеся радикалы инициируют новые цепи окисления, что ведет к вырождению цепей, потому, что гомолизу подвергается небольшая часть (6-10%) молекул гидропероксидов. Их распад происходит значительно медленнее скорости цепной реакции.

Гомолиз катализируется ионами переменной валентности ( $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ) и происходит, в основном, гетерогенно в тонком слое на внутренней поверхности дубовых клепок. Количество свободных радикалов возрастает также в результате воздействия на дубовую клепку кислорода воздуха, гамма- и УФ-лучей и других факторов. Этот принцип положен в основу разработки новых ускоренных технологий созревания коньячного спирта.

Созревание и старение коньячного спирта сопровождается экстракцией компонентов дуба и их химическим превращением под воздействием кислорода, а также взаимодействием этих соединений друг с другом и коньячным спиртом.

На первом этапе происходит экстракция наиболее легкоизвлекаемых дубильных веществ и их интенсивное окисление, гидролиз гемицеллюлоз и появление ксилозы, арабинозы и глюкозы, образование фурфурола.

На следующем этапе экстрагирование дубильных веществ ослабевает, но происходит их дальнейшее окисление. В условиях более высокой кислотности интенсивнее протекает извлечение и этанолиз лигнина, гидролиз целлюлоз, появляется фруктоза.

С течением времени окисление танидов продолжается с образованием спиртонерастворимых продуктов, а процесс экстрагирования еще больше замедляется.

Определяющую роль в образовании коньяка играют лигнин и продукты его превращений. В процессе длительного хранения коньячного спирта в дубовой таре происходит этанолиз древесины дуба и обогащение спирта этанол-лигнином. Кислоты спирта, содержание которых по мере выдержки спирта несколько возрастает, усиливают этанолиз лигнина.

Этанол-лигнин служит источником образования кониферилового и синапового спирта, которые под действием кислорода превращаются соответственно в конифериловый и синаповый альдегиды. Дальнейшее окисление этих веществ ведет к образованию ванилина, сиреневого альдегида и других компонентов коньяка, обладающих специфическим приятным ароматом и участвующих в сложении его высоких органолептических свойств. В коньячном спирте обнаружены в свободном состоянии также формальдегид, ацетальдегид, фенилацетальдегид, метилфурфурол.

Выдержанный коньячный спирт содержит 2-окси-3-метил-2-циклопентен-1-он, 2,5-диметил-4-окси-3(2H)-фуранан, 2-оксиметил-5-метил-4-окси-3(2H)-фуранон, происхождение которых связывают с распадом аскорбиновой кислоты, катализируемом соединениями меди. Продукты дегидратации аскорбиновой кислоты обладают приятным ароматом.

Ионы меди играют и другую важную роль – они образуют с жирными кислотами, переходящими в вино из дрожжей и имеющими неприятный запах, нерастворимые соли, появляющиеся в дистилляте в конце перегонки в виде частичек масла зеленого или коричневого цвета, которые легко всплывают на поверхность спирта-сырца, откуда они могут быть удалены. По составу они представляют собой соли меди с масляной, капроновой, каприловой и лауриновой кислотами.

При этом решающее значение принадлежит дубовой древесине. Оно обуславливается двумя факторами – особенностями микроструктуры древесины, на поверхности которой и в порах протекают гидролитические

процессы, и генетической связью между ее составом и веществами, образующимися в процессе созревания коньячного спирта.

Накопление эфиров при выдержке коньячного спирта зависит от исходной концентрации в нем кислоты и спирта, а также содержания ранее образовавшихся эфиров и с течением времени постепенно затухает.

Если в среде имеется много эфиров и ощущается недостаток кислот, может наступить дезтерификация, которая приведет к снижению содержания эфиров даже в выдержанном коньячном спирте.

Поэтому, качество коньячного спирта определяется не столько суммарным содержанием, сколько наличием или отсутствием специфических эфиров. Например, энантивый эфир играет важную роль в формировании органолептических показателей французских коньяков, придавая их вкусу высоко ценимый мыльный тон.

Считают, что букет коньяка, главным образом, зависит от содержания в нем окталактонов, эфиров жирных кислот и ароматических альдегидов, аромат, вкус и цвет определяются в основном дубильными веществами и низкомолекулярными компонентами лигнина.

### Спирт

При нагревании до 120-130° под давлением крахмальный клейстер переходит в растворимое состояние. Этого температурного воздействия было бы вполне достаточно для последующего осахаривания крахмала. Однако для разрушения тканей, окружающих и удерживающих крахмал, приходится повысить температуру до 145-158° и выдержать при этих условиях около 40-50 минут. И действительно, практикой подтверждено, что разваривание цельного зерна при температуре 120-130° в течение длительного срока дает в части полноты извлечения крахмала худшие результаты, чем разваривание при 145-158°. Кроме того, с увеличением давления резко сокращается продолжительность разваривания. Однако применение высокого давления имеет и свои отрицательные стороны, обусловленные потерей сахара и крахмала.

Вопрос о влиянии высокой температуры на разложение крахмала при разваривании до сего времени остался нерешенным. Не вызывает лишь сомнения то, что в процессе разваривания под влиянием органических кислот, содержащихся в сырье, происходит частичный гидролиз крахмала с образованием декстринов (как промежуточных продуктов) и сахара. Катализаторами гидролитических реакций, происходящих во время разваривания крахмалистого сырья, служат фосфорная, муравьиная, щавелевая, леулиновая и другие кислоты, которые всегда имеются в том или ином количестве в сырье. Их относительная каталитическая активность по сравнению с соляной или серной кислотой невелика, но все же достаточна для гидролиза крахмала под давлением, особенно фосфорной. Чем выше концентрация органических кислот и температура нагревания, тем больше крахмала гидролизуется в сахар. Одновременно с образованием происходит и частичный распад сахара. Так как константа разложения моносахаридов зависит от тех же факторов, что и гидролиз полисахаридов, то с увеличением концентрации кислоты и температуры потери сахара, а соответственно и крахмала, возрастают. Таким образом, решающее влияние на потери крахмала при разваривании оказывают кислоты как имеющиеся в сырье, так и образовавшиеся при его нагревании.

Условия для гидролиза более благоприятны в дефектном сырье, так как в нем содержится больше кислот и частично разрушена структура клеточных стенок и крахмальных зерен. Поэтому потери крахмала в процессе разваривания будут больше для дефектного сырья. Точной методики для определения потерь Крахмала при разваривании сырья не имеется. Применяющиеся изредка при исследованиях косвенные приемы определения этих потерь, по разности между суммой сбрасываемых веществ в сырье и разваренной массе, весьма сложны и не совсем точны. По этой причине технико-химический контроль процесса разваривания, несмотря на острую необходимость в этом, не получил должного развития в спиртовой промышленности.

По данным ВНИИСПа, суммарные потери сахара и крахмала при обычном режиме разваривания определяются для картофеля в пределах 1,0-1,5% и для зерна 2,5-3,5%. Установлено также, что время на величину потерь оказывает меньшее влияние, чем температура. Несмотря на сравнительно высокое давление, применяемое для разваривания, все же до 8-13% крахмала остается в массе в нерастворенном состоянии. И лишь в процессе осахаривания и сбраживания этот крахмал превращается в сахар, притом неполностью.

Увеличенные потери крахмала имеют место при так называемом «переваре» сырья, характеризующемся коричневой окраской и пригорелым запахом массы. Продукты распада сахаров и их соединений с аминокислотами оказывают неблагоприятное влияние на жизнедеятельность дрожжей, вследствие чего степень сбраживания сахара и выход спирта уменьшаются.

Нормально сохранившееся зерно и картофель имеют слабокислую реакцию, соответствующую  $\text{pH} = 6,0-6,2$ . Кислая реакция их обусловлена фосфорно-органическими соединениями, белками кислого характера, жирными кислотами и небольшим количеством органических кислот (яблочной, щавелевой и др.).

При нагревании и выдерживании сырья под давлением количество кислых соединений увеличивается, поэтому разваренная масса имеет всегда более кислую реакцию, чем исходное сырье. Объясняется это превращением ряда веществ сырья при высокой температуре. Фосфорная кислота освобождается из ее неорганических и органических соединений (фитина, лецитина и нуклеина). Происходит до некоторой степени гидролитический распад жиров, белков и углеводов. Освободившиеся жирные кислоты, растворяющиеся в небольшом количестве в воде, нейтрализуют щелочные фосфаты ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) и переводят их в кислые фосфаты ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ).

При гидролизе белков выделяются аминокислоты. От распада сахара образуются гуминовые вещества, муравьиная, леулиновая и другие кислоты.

Пентозы и метилпентозы при нагревании разлагаются на фурфурол, муравьиную и гуминовую кислоты. В результате гидролиза пектинов и камедей наряду с пентозами получается также галактурановая, а в некоторых случаях и глюкуроновая кислота. При распаде уроновых кислот образуется фурфурол, который в свою очередь быстро расщепляется на гуминовые вещества и муравьиную кислоту.

В сырье, подвергавшемся самосогреванию и гниению, количество кислых продуктов значительно увеличивается за счет превращения микроорганизмами углеводов в молочную, уксусную, масляную и другие кислоты. Чем больше начальная кислотность сырья, тем разнообразнее и глубже гидролитические реакции, которые протекают при разваривании. С увеличением давления кислотность разваренной массы сырья прямолинейно возрастает (табл.).

Изменение кислотности при разваривании кукурузы под давлением  
(по А. Г. Забродскому)

| Давление<br>(в <i>ати</i> ) | Температура<br>(в градусах) | Кислотность 100 г сухого<br>вещества (в градусах) |                                       |
|-----------------------------|-----------------------------|---|---------------------------------------|
|                             |                             | нормальная<br>кукуруза                            | дефектная ку-<br>куруза<br>IV степени |
| 0,0                         | 100,0                       | 2,5   | 6,2                                   |
| 1,0                         | 119,6                       | 3,2   | 7,5                                   |
| 2,0                         | 132,9                       | 3,8   | 8,2                                   |
| 3,0                         | 142,9                       | 4,5   | 8,8                                   |
| 4,0                         | 151,1                       | 6,2   | 10,5                                  |
| 5,0                         | 158,1                       | 7,0   | 12,5                                  |

Образование в процессе разваривания значительных количеств кислых соединений является весьма нежелательным обстоятельством, так как оно влечет за собой усиление гидролитических реакций, сопровождающихся еще большим превращением крахмала в сахар и распадом последнего. Кроме того, чем больше кислотность разваренной массы сырья, тем больше инактивируется амилаза солода в процессе затирания и осахаривания, что в конечном счете отражается на степени сбраживания углеводов и выходе спирта.

При обработке водой муки или картофельной каши в раствор переходят так называемые воднорастворимые белковые вещества, которые при нагревании до 80-100° коагулируют в виде хлопьев. Вследствие этого в первой стадии разваривания количество растворимых азотистых веществ уменьшается. Во второй стадии разваривания, когда температура повышается от 100 до 158°, количество переходящего в раствор азота заметно увеличивается. По данным ВНИИСП'а, при обычном режиме разваривания в раствор переходит от 20 до 50% азота, содержащегося в зерне. Часть азотистых веществ под действием кислот и температуры гидролизуются до амидов, которые являются хорошим питательным материалом для дрожжей.

Жиры в процессе разваривания изменяются очень мало, так как температура в 140-158° недостаточна для расщепления глицеридов. Поэтому при разваривании образуется небольшое количество жирных кислот. По исследованиям Киевского филиала ВНИИСП'а, около 90-95% жировых веществ, содержащихся в зерне, выходят из процесса разваривания без существенных качественных изменений.

Происходящий под действием высокой температуры распад пектиновых, гумиобразных и слизистых веществ, обуславливающих вязкость разваренной массы, приводит к уменьшению вязкости заторов, что наблюдается при увеличении давления и продолжительном разваривании сырья. Сбраживание жидких и подвижных заторов происходит быстрее, чем густых и малоподвижных. Поэтому степень сваренности массы надо определять по состоянию не только крахмала, но и тех веществ сырья, которые придают ей вязкие свойства.

Экстрактивные вещества растворяются в воде и при низкой температуре, но с повышением ее до 140-150° в раствор переходит тем больше веществ, чем дольше продолжается разваривание. Количество воднорастворимых экстрактивных веществ для нормального зерна обычно не превышает 8-10%. При нагревании же его с водой в течение 60-90 минут под

давлением 4 ати в раствор переходит до 15-20% указанных веществ. Особенно много (до 30-35%) переходит в раствор экстрактивных веществ при разваривании дефектного сырья, испорченного в результате самосогревания и других обстоятельств. Под влиянием биохимических процессов составные части сырья в этом случае претерпевают столь существенные изменения, что при нагревании под давлением они легко и в большом количестве переходят в раствор. Из этого следует, что дефектное сырье необходимо разваривать при более низком давлении. Чрезмерное растворение несхаристых веществ нежелательно, так как это ухудшает свойства заторов, которые сбраживаются тем хуже, чем ниже их доброкачественность.

Превращение крахмала в сахар может быть осуществлено химическим и ферментативным методами. По первому методу крахмал кипятят под давлением со слабыми растворами минеральных кислот, в результате чего образуется сахар-глюкоза. По ряду причин этот метод в спиртовой промышленности не принят, но он применяется в других отраслях народного хозяйства, например, в крахмало-паточной промышленности для получения глюкозной патоки. По второму методу крахмал можно превратить в сахар действием ферментов, содержащихся в различных растительных материалах и плеснях. Наиболее богаты такими ферментами прорастающие семена растений.

В спиртовом производстве применяется ферментативный метод осахаривания. В качестве материала, содержащего требуемые ферменты, употребляется, главным образом, зеленый солод, приготавливаемый из ячменя, проса, овса, ржи и чумизы. Применяются для этой цели также ферменты плесеней, например, *Aspergillusoryzae*.

При ферментативном распаде крахмала получается 75-80% мальтозы и 20-25% смеси промежуточных продуктов сложного состава, называемых декстринами. Мальтоза легко сбраживается дрожжами на спирт; декстрины же, как и крахмал, непосредственно дрожжами не сбраживаются и требуют

дополнительного осахаривания. В условиях спиртового производства осахаривание декстринов в основном происходит в третьей стадии брожения, когда большая часть мальтозы уже сброжена, т. е. в период дображивания.

Этот процесс имеет большое значение с точки зрения достижения наибольшего выхода спирта из крахмала. Поэтому весьма важно, чтобы осахаривающие ферменты сохраняли свою активность до конца брожения. Для превращения крахмала в сахар с наименьшими потерями требуется, чтобы сырье развариванием было хорошо подготовлено к осахариванию и стало доступным действию ферментов солода. Кроме того, необходимо, чтобы ферменты солода обладали высокой активностью и сохраняли ее до конца брожения.

#### **4. Окислительно-восстановительные процессы на различных этапах производства.**

Интенсивность окислительно-восстановительных\* реакций можно измерить, пропуская электроны по замкнутому проводнику. {\*Биологическое окисление можно рассматривать как процесс присоединения кислорода к органическому веществу или перенос водорода (электронов) этого вещества на другое вещество или на молекулярный кислород. Процесс окисления сопровождается всегда процессом восстановления веществ, присоединяющих водород или электроны.}

Электродвижущая сила (э. д. с.), возникающая при перемещении электронов, пропорциональна интенсивности протекающей химической реакции и может быть охарактеризована величиной ОВ (окислительно-восстановительного) потенциала.

Величина ОВ-потенциала (Eh) зависит от соотношения окисленной и восстановленной форм веществ и числа переходящих электронов. Эта зависимость выражается уравнением Нернста:

$$Eh = Eh_0 + \frac{0,058}{n} \log \frac{O_x}{Red} ,$$

где  $O_x$  - концентрация окисленной формы;  
 $Red$  - концентрация восстановленной формы;  
 $n$  - число переходящих электронов;  
 $Eh_0$  - нормальный потенциал системы.

ОВ-потенциал большинства систем зависит от рН. При возрастании рН на единицу он становится отрицательнее на 58 мВ (при температуре 18°C).

Чтобы связать  $Eh$  и рН ОВ-системы, Кларком предложена величина  $rH_2$ , выражающая давление молекулярного водорода в системе.  $rH_2$  вычисляется по формуле (при 30°C):

$$rH_2 = \frac{Eh + 0,06pH}{0,03} .$$

$rH_2$  может колебаться от 0 до 42,6. Чем меньше  $rH_2$ , тем выше восстановительная способность системы.

Для определения восстановительной способности системы применяется индикатор – раствор 2,6-дихлорфенолиндофенола. Восстановительная способность (ВС) системы определяется скоростью обесцвечивания индикатора. Если окраска индикатора исчезает за 5-10 с, то восстановительная способность среды считается высокой, за 15-30 с - средней, за 30 с - слабой.

Каждая ОВ-система обладает определенной буферностью, т. е. сопротивляемостью к изменению потенциала под действием других ОВ-систем. Максимальная буферность наблюдается при равных концентрациях окисленной и восстановленной форм. В системах, где окисленная или восстановленная форма преобладает, буферность невелика и потенциал очень чувствителен к введению других систем.

Особенностью биологических ОВ-систем является малая скорость прохождения в них ОВ-реакций. Скорость течения этих реакций определяется природой ионов, степенью ионизации, рН раствора, влиянием посторонних ионов и особенно концентрацией компонентов ОВ-системы.

В сильно разбавленных растворах равновесие устанавливается настолько медленно, что для них неприменимо уравнение Нернста. Концентрация, ниже которой равновесие практически не устанавливается, называется предельной. Предельная концентрация различна для разных ОВ-систем, но в среднем составляет  $10^{-4} \div 10^{-5}$  г-ион/л. Например, для системы  $Fe^{2+} \rightleftharpoons Fe^{3+}$  предельная концентрация каждого иона равна 5,6 мг/л, или 11,2 мг общего железа на 1 л.

Н. И. Некрасов установил, что в неравновесной биологической системе величина ОВ-потенциала показывает не только концентрацию компонентов ОВ-системы, но и скорость течения ОВ-реакций, так как скорость той или иной ОВ-реакции зависит от концентрации ферментов, катализирующих отщепление водорода или окисление кислородом, а также от концентрации кислорода и веществ, способных отдавать водород.

Для определения ОВ-потенциала в биологических системах он предложил уравнение:

$$Eh = \frac{RT}{F} \ln [H^+] + \frac{RT}{F} \ln \frac{K_1 [O_2]}{K_2 [Red]} + Eh_0,$$

где  $H^+$  - концентрация ионов водорода;  
 $K_1$  - константа скорости окисления восстановленной формы;  
 $K_2$  - константа скорости окисления водорода кислородом на поверхности электрода;  
 $O_2$  - концентрация кислорода в растворе;  
 $Eh_0$  - нормальный потенциал системы.

Об ОВ-системах суслу и вина известно немного. Некоторые из этих систем приведены в табл.1 (по З. Н. Кишковскому и И. М. Скурихину). Какие из этих систем определяют ОВ-потенциал суслу и вина, до сих пор не установлено.

Таблица 1

| Окислительно-восстановительные системы суслу и вина |                    |        |
|---|--------------------|--------|
| Окислительно-восстановительные                      | $Eh_0$ , мВ при рН | $rH_2$ |

| системы  | 0,0 | 3,0 | 7,0  |    |
|--|-----|-----|------|----|
| Ацетальдегид/уксусная кислота                        | -   | -   | -468 | -  |
| Этанол/ацетальдегид                                  | -   | -   | -200 | -  |
| Молочная/пировиноградная кислота                     | -   | -   | -180 | -  |
| Цистеин/цистин                                       | -   | -   | -140 | -  |
| Яблочная/щавелевоуксусная кислота                    | -   | -   | -102 | -  |
| Глютатион<br>восстановленный/глутатион<br>окисленный | -   | -   | 40   | -  |
| $CU^{1+}/CU^{2+}$                                    | -   | 170 | -    | -  |
| $SO_3^{2-}/SO_4^{2-}$                                | -   | 200 | -    | -  |
| Аскорбиновая/дегидроаскорбиновая кислота             | -   | 210 | -    | 13 |
| Антоцианы винограда<br>восстановленные/окисленные    | -   | 270 | -    | 15 |
| Винная/диоксифумаровая кислота                       | -   | 220 | -    | 16 |
| Диоксифумаровая/дикетоянтарная кислота               | -   | -   | 300  | -  |
| Катехины винограда<br>восстановленные/окисленные     | -   | 430 | -    | 21 |
| $Fe^{2+}/Fe^{3+}$                                    | 770 | -   | -    | -  |
| Перекись водорода/кислород                           | 680 | -   | -    | -  |

Ж. Риберо-Гайон и С. В. Дурмишидзе считают, что решающее значение в определении ОВ-потенциала вин играют фенольные вещества -

катехины и антоцианы. Для сула и молодого вина это справедливо, но в выдержанных винах их количество ничтожно мало.

То же касается и содержания тяжелых металлов (меди и железа), которое ниже предельной концентрации. Таким образом, следует предполагать, что ОВ-потенциал вина будет определяться отношением концентрации кислорода к концентрации восстановителей:

$$Eh = f \frac{[O_2]}{[Red]}$$

Из уравнения следует, что при увеличении концентрации кислорода при  $[Red]=const$  величина Eh будет возрастать, и, наоборот, при введении восстановителей, например  $SO_2$ , величина ОВ-потенциала будет уменьшаться.

Скорость потребления кислорода зависит от возраста вина. В молодом вине, где скорость потребления кислорода высокая, ОВ-потенциал быстро достигнет прежнего уровня. Наоборот, в старом вине, содержащем мало веществ, способных окисляться при аэрации, ОВ-потенциал длительное время будет оставаться высоким.

#### Белые сухие вина

На первых стадиях приготовления вина наибольшую роль в прохождении ОВ-процессов играют фенольные соединения, которые окисляются с образованием хинонов значительно увеличивающих ОВ-потенциал. Хиноны дегидрируют легкоокисляемые вещества (аскорбиновую кислоту, аминокислоты и др.). Усиление ОВ-процессов при созревании вина приводит к образованию веществ с высоким порогом вкусовой чувствительности (ацетальдегида, диацетила, летучих кислот и др.), которые могут вызвать переокисленность натуральных вин.

Каталитическое действие на развитие окислительно-восстановительных процессов в вине оказывают биологические катализаторы – ферменты – и неорганические катализаторы окисления – железо, медь.

Окислительные ферменты – оксидоредуктазы достаточно широко представлены в виноградной ягоде. По степени активности о-дифенолоксидазы основные технические сорта винограда, используемые в производстве белых натуральных сухих вин, могут быть размещены в следующий ряд.

Мцване> Каберне > Мускат >Сильванер>Шардоне> Рислинг >Алиготе>Ркацителли>Траминер> Совиньон

О-дифенолоксидаза проявляет свою активность в первые 60-70 минут после вытекания сока, затем ее действие снижается до минимума. Окислительное действие о-дифенолоксидазы возрастает, если она иммобилизована на различных растительных взвесах, находящихся в сусле. В то же время активность окислительных ферментов существенно уменьшается после внесения в сусло бентонитовой суспензии в результате сорбции фермента на минерале и выведения его в осадок. Очень эффективным оказывается добавка бентонитового порошка или суспензии на виноград.

Доступ кислорода в этот период может привести к быстрому окислению легко окисляющихся веществ сусла. Вино становится устойчивым против окисления, которое может проходить при различных технологических обработках, что благотворно сказывается на его качестве.

Если в процессе выдержки вино поглощает в год не более 3-5 мг/дм<sup>3</sup> кислорода, то винная кислота окисляется до диоксифумаровой, устанавливается низкий ОВ-потенциал, а содержащиеся редуценты восстанавливают окисленные вещества, что способствует возникновению вкуса и букета, характерного для натуральных вин.

#### **Роль окислительно-восстановительного потенциала в виноделии**

Измеряя величину ОВ-потенциала, можно контролировать окислительно-восстановительные процессы, протекающие в вине.

П. В. Кочерга считает, что вещества, обуславливающие букет и вкус вина, образуются и сохраняются при низком ОВ-потенциале, при котором

происходит созревание вин различных типов. Изменяя ОВ-потенциал вина путем добавления к нему ионов тяжелых металлов, он наблюдал изменение типа вина, появление оттенков портвейна, мадеры, хереса. Эти исследования показали, что качество вина зависит от технологии его изготовления.

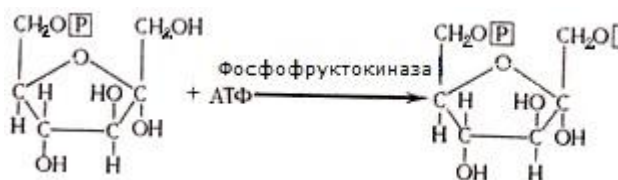
Шандерль также связывает типы вин с величиной ОВ-потенциала. Он считает, что оптимальный уровень потенциала, зависящий от типа вина, позволяет определить характер процессов, протекающих при его созревании. Он приводит следующие данные:

| Вино                | Eh, мВ  |
|---------------------|---------|
| Столовое (в бочках) | 360-410 |
| Столовое бутылочное | 150-250 |
| Шампанское          | 200-350 |
| Крепкое и десертное | 380-500 |

Величина ОВ-потенциала молодых вин выше, чем выдержанных. Шандерль и др. считают, что вина с более низким ОВ-потенциалом обладают более высоким качеством. Изучая связь между величиной ОВ-потенциала и органолептическими свойствами вина, он пришел к выводу, что низкий ОВ-потенциал влияет не только на стабильность вина, но и на его вкус и букет. Величина ОВ-потенциала имеет особое значение при изготовлении столовых и шампанских вин. Сухие столовые и шампанские виноматериалы не нуждаются в кислороде воздуха, поэтому их следует хранить в анаэробных условиях, а технологические операции проводить в отсутствие кислорода, чтобы сохранить сортовой вкус винограда.

Наоборот, для созревания мадеры, хереса и других окисленных вин требуется большое количество кислорода, так как они имеют более высокий ОВ-потенциал.





Фруктофура

Фруктофура

нозо-6-

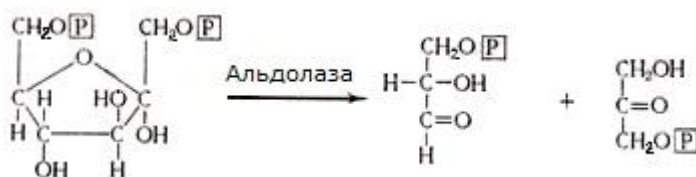
нозо-1,6-

фосфат

дифосфат

В результате этих реакций молекула сахара переходит в оксоформу и становится более лабильной. Благодаря симметричному расположению остатков фосфорной кислоты на концах молекулы облегчается ее разрыв в середине.

В дальнейшем фруктофуранозо-1,6-дифосфат под действием фермента альдолазы распадается на два изомерных триозофосфата: 3-фосфоглицериновый альдегид и фосфодиоксиацетон:

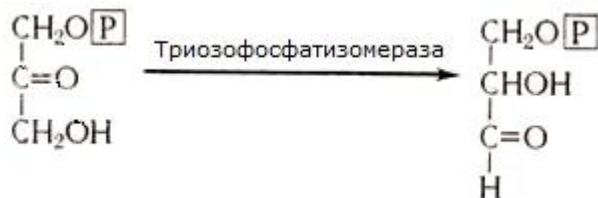


Фруктофуранозо-  
1,6-дифосфат

3-Фосфогли-  
цериновый  
альдегид

Фосфодиокси-  
ацетон

Под действием фермента изомеразы фосфотриоза фосфодиоксиацетон превращается в 3-фосфоглицериновый альдегид:



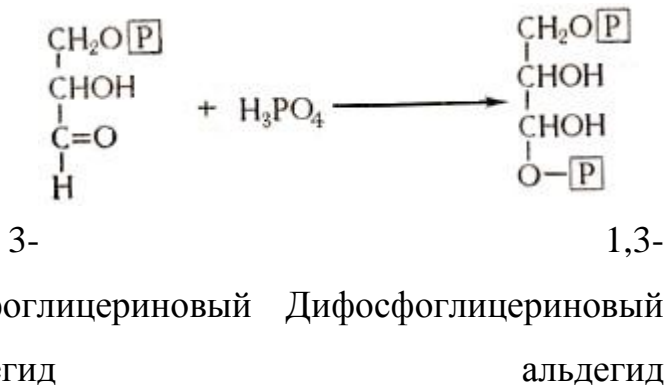
Фосфодиокси

3-

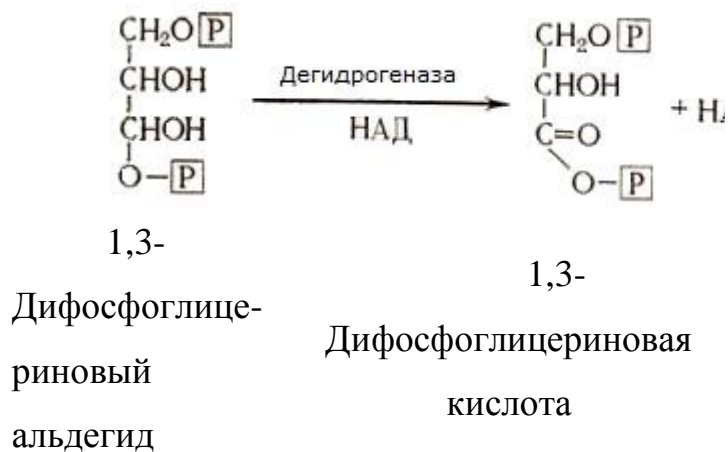
ацетон

Фосфоглицериновый  
альдегид

3-Фосфоглицериновый альдегид присоединяет еще один остаток фосфорной кислоты (за счет неорганического фосфора) с образованием 1,3-дифосфоглицеринового альдегида:



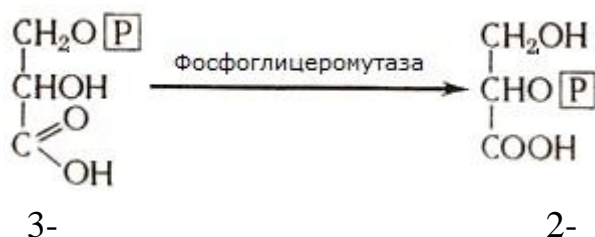
1,3-Дифосфоглицериновый альдегид под действием фермента триозофосфатдегидрогеназы в присутствии кофермента НАД, являющегося переносчиком водорода, окисляется в 1,3-дифосфоглицериновую кислоту:



Затем 1,3-дифосфоглицериновая кислота отдает один остаток фосфорной кислоты на молекулу АДФ, образуя 3-фосфоглицериновую кислоту и АТФ; этот процесс идет при участии фермента фосфоглицерокиназы:



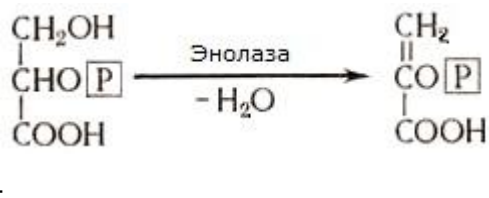
Под действием фермента фосфоглицеромутазы 3-фосфоглицериновая кислота превращается в 2-фосфоглицериновую кислоту:



Фосфоглицериновая  
кислота

Фосфоглицериновая  
кислота

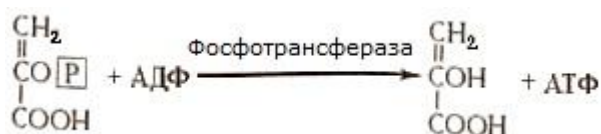
Под действием фермента энолазы происходит дегидратация 2-фосфоглицериновой кислоты с образованием фосфоэнолпировиноградной кислоты:



Фосфоглицериновая  
кислота

Фосфоэнолпировиног  
радная кислота

Последняя отдает остаток фосфорной кислоты АДФ с образованием энолпировиноградной кислоты и АТФ. Процесс катализируется ферментом фосфотрансферазой:



Фосфоэнолпир  
овино-  
градная кислота

Энолпировиног  
радная  
кислота

Энолпировиноградная кислота превращается в более стойкую кетоформу - пировиноградную кислоту:



|               |           |
|---------------|-----------|
| Энолпировиног | Пировиног |
| радная        | радная    |
| кислота       | кислота   |

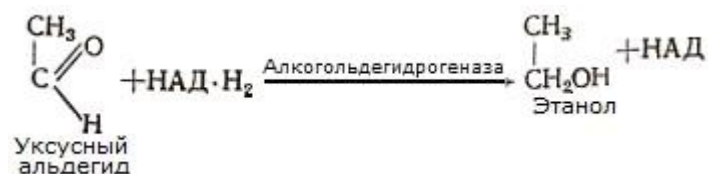
Указанные превращения имеют место во всех случаях анаэробного распада углеводов.

Дальнейшие превращения в зависимости от наличия фермента пируватдекарбоксилазы приводят к образованию этилового спирта или молочной кислоты (при молочнокислом брожении) либо к полному окислению до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  (при аэробном дыхании).

При спиртовом брожении происходит декарбоксилирование пировиноградной кислоты с образованием уксусного альдегида и углекислого газа:



В дальнейшем уксусный альдегид восстанавливается в этиловый спирт при участии восстановленной формы НАД, служащей донатором водорода, и фермента алкогольдегидрогеназы:



### Изменение составных веществ сусла в процессе брожения

Изменения в составе основных веществ сусла зависят от типа вина и могут быть значительными. Так, в сухих столовых винах сахар почти отсутствует. Сахароза и гексозы сбраживаются, и остаточный сахар в количестве 0,1-0,3% состоит главным образом из пентоз. В других типах вин сахара остается больше.

Количество пектиновых веществ резко снижается при брожении в результате ферментативного гидролиза.

Превращения азотистых веществ обусловлены их потреблением дрожжами в процессе жизнедеятельности и выделением в среду при распаде - автолизе дрожжевых клеток.

В процессе размножения дрожжи интенсивно потребляют аммиачный азот, азот аминокислот сула. Содержание аминного азота в этот период уменьшается на 40-50%. При этом глютаминовая, аспарагиновая кислоты, валин, лейцин, изолейцин, цистеин, аргинин, триптофан, тирозин, фенилаланин, метионин используются дрожжами на 75-90%.

Содержание пролина, глицина, лизина, цистеина уменьшается незначительно. Это говорит о том, что аминокислоты для дрожжей неравноценны. По степени усвояемости дрожжами их можно разделить на три группы: аминокислоты, хорошо усваиваемые дрожжами (лейцин, валин, аргинин, фенилаланин, тирозин, аспарагиновая кислота); аминокислоты, занимающие среднее положение по усвояемости (аланин, пролин, оксипролин); плохо усваиваемые аминокислоты (триптофан, гистидин, глицин, цистеин). Различная степень усвояемости аминокислот объясняется не только скоростью дезаминирования, но и способностью дрожжей использовать дезаминированный остаток для синтеза отсутствующих аминокислот.

При аэрации сула потребление азотистых веществ дрожжами возрастает. Наряду с потреблением азота в процессе брожения происходит выделение в суло азотистых веществ, в основном аминокислот. В первую очередь дрожжи выделяют  $\gamma$ -аминомасляную кислоту, аланин, аспарагиновую и глютаминовую кислоты. Затем выделяются и другие аминокислоты.

К концу брожения начинается отмирание части дрожжевых клеток и вслед за этим наступает их автолиз. В этот период среда обогащается полипептидами и аминокислотами, ферментами, пуриновыми и пиримидиновыми основаниями.

В период брожения часть азотистых веществ осаждается образующимся спиртом. Кроме того, осаждаются и азотсодержащие танаты.

Азотистые вещества вина включают как азотистые вещества сусла, так и азотистые вещества дрожжей.

Поскольку роль азотистых веществ в формировании и созревании вина очень велика, встает проблема регулирования их количества в виноматериале.

В качестве факторов, регулирующих содержание азотистых веществ в вине, можно назвать температуру брожения и аэрацию.

Установлено, что наименьшее количество азотистых веществ образуется при температуре брожения 15-20°C. Как более низкие, так и более высокие температуры приводят к увеличению содержания азотистых веществ в вине. Это объясняется тем, что при низких температурах задерживается размножение дрожжей, а при более высоких ускоряется автолиз дрожжей.

Сбраживание сусла при доступе воздуха приводит к наименьшему содержанию азотистых веществ при всех температурных режимах.

В процессе брожения претерпевают значительные изменения фенольные соединения. В начале и конце брожения, когда в сусле и вине имеется кислород, происходит интенсивное окисление фенольных соединений и их выпадение в осадок. Содержание антоцианов уменьшается на 60%. Во время брожения наблюдается восстановление хинонов за счет глутатиона, выступающего в качестве переносчика водорода. Пока в сусле имеются хиноны, глутатион находится в окисленной форме, но после их полного восстановления можно обнаружить восстановленную форму глутатиона.

Фенольные соединения, взаимодействуя с белками, образуют танаты, которые выпадают в осадок. При спиртовом брожении фенольные соединения частично связывают образующийся уксусный альдегид. В результате брожение направляется по глицеропировиноградному циклу и увеличивается количество глицерина, содержание которого в кахетинских

винах может достичь 10 г/л. С. В. Дурмишидзе объясняет это тем, что при брожении на мезге катехины проникают внутрь дрожжевой клетки и связывают уксусный альдегид.

При содержании фенольных соединений в сусле свыше 5 г/л возможна задержка размножения дрожжей, а, следовательно, и брожения.

В процессе брожения происходит также превращение кислот как содержащихся в сусле, так и образованных при брожении. Эти превращения могут быть окислительного характера или проходить по циклу ди- и трикарбоновых кислот. Установлена способность дрожжей окислять органические кислоты - уксусную, янтарную, лимонную.

Количество летучих кислот, образующихся в процессе брожения, зависит от условий. В аэробных условиях оно составляет 0,5 г/л, в анаэробных - 0,7 г/л. Меньшее образование летучих кислот в аэробных условиях А. К. Родопуло объясняет окислением уксусной кислоты в ацетил-КоА по циклу ди- и трикарбоновых кислот.

В процессе брожения выпадают в осадок кальциевые и кислые калиевые соли винной и щавелевой кислот, растворимость которых уменьшается с повышением концентрации спирта.

Изменение титруемой кислотности определяется ее первоначальным значением в сусле. При высокой кислотности сусле она снижается в процессе брожения, а при низкой кислотности повышается.

По данным А. К. Родопуло, активность окислительных ферментов в процессе брожения снижается и на пятый день наступает их полная инактивация. Установлено, что около 20% *o*-дифенолоксидазы поглощается дрожжами, а остальные 80% инактивируются при брожении. Таким образом, действие окислительных ферментов проявляется до наступления бурного брожения.

На инактивирование окислительных ферментов не оказывают влияния продукты брожения - спирт, уксусный альдегид и др. Торможение активности *o*-дифенолоксидазы наблюдается при появлении в сусле цистеина

и глутатиона, образующихся в результате жизнедеятельности дрожжей. А. К. Родопуло объясняет это тем, что цистеин и глутатион связывают тяжелые металлы, входящие в состав фермента, что и приводит к его инактивации.

В стадии голодания дрожжи выделяют в среду некоторые ферменты: протеиназы,  $\beta$ -фруктофуранозидазу.

Изменение витаминного состава сусла определяется расой дрожжей и условиями брожения. В первый период брожения большинство витаминов сусла поглощается дрожжами. В дальнейшем вследствие автолиза дрожжевых клеток осуществляется обратный переход витаминов в вино. Содержание мезоинозита практически не меняется. В вине обнаружен витамин  $B_{12}$ , который дрожжи способны синтезировать.

#### Белые сухие вина

Наиболее глубокие изменения в химическом составе сусла происходят в процессе его брожения. Однако ход и направленность спиртового брожения можно регулировать содержанием спирта, азотистых веществ, сахара, высших спиртов, альдегидов, глицерина, например, за счет сбраживания сусла в непрерывном потоке и регулирования температуры процесса.

Более высокое качество вина формируется в условиях медленного брожения, при котором уменьшаются потери в атмосферу ценных ароматических и вкусовых летучих веществ, лучше сохраняется сортовой аромат.

Основным фактором, влияющим на ход брожения, является температура. Оптимальная температура брожения сусла в производстве белых сухих натуральных вин лежит в пределах  $14-18^{\circ}\text{C}$ , а при  $15^{\circ}\text{C}$  в вине накапливается минимальное количество аминокислот.

В тоже время при повышенной температуре вследствие активации автолитических процессов виноматериалы в большей степени обогащаются летучими кислотами, альдегидами и азотистыми веществами, при этом количество высших спиртов и общих эфиров в них снижается.

Такие вина склонны к помутнениям, болезням, легче подвергаются переокислению.

Важное значение среди процессов, протекающих после окончания брожения, имеют автолитические реакции, яблочно-молочное брожение, в результате которого в винах богатых яблочной кислотой, исчезает «зеленая» кислотность, их вкус становится более мягким и гармоничным.

Следствием продолжающихся автолитических процессов является обогащение молодого вина азотистыми веществами, полисахаридами, липидами, витаминами, ферментами-протеиназами, эстеразами,  $\alpha$ -фруктофуранозидазой и другими, которые интенсифицируют процессы этерификации, гидролиза. В этот период вино осветляется за счет седиментации дрожжевых клеток, виннокислых солей, танатов, полисахаридов, биоконплексов. Десорбция растворенного в вине диоксида углерода облегчает доступ к нему кислорода, что стимулирует окислительно-восстановительные процессы.

#### Красные сухие вина

При брожении на мезге часть антоцианов, извлекаемых из кожицы, сорбируется на ее частицах и клетках дрожжей, окисляется в присутствии оксидифенолоксидазы, взаимодействует с белками, конденсируется и вступает в другие реакции, в результате чего выпадает в осадок и выводится из среды. Изменение окраски вина может происходить в результате взаимодействия антоцианов с энетанином. С увеличением концентрации танина цвет становится интенсивнее и переходит от малинового и светло-рубинового в темно-рубиновый. Важным свойством антоцианов является обесцвечивание их сернистой кислотой, наблюдающееся прежде всего при сульфитации суслу – это явление носит обратимый характер, окраска восстанавливается за счет связывания  $\text{SO}_2$  ацетальдегидом.

Интенсивность цвета красных вин зависит от суммарного количества в них антоцианов, придающих красную окраску, и продуктов конденсации фенольных веществ, которые обуславливают коричневые и кирпично-

красные тона. У молодых вин цвет имеет сине-фиолетовый и сине-голубой оттенки. По мере выдержки эти оттенки исчезают и заменяются последовательно вишневыми, гранатовыми и рубиновыми тонами, а после многолетней выдержки – кирпичными и коричневыми.

Антоцианы имеют максимум поглощения света при длине волны 520 нм, а продукты конденсации и полимеризации фенольных веществ – при 420 нм. Поэтому общая интенсивность цвета красного вина  $I$  определяется как сумма оптических плотностей  $I = D_{520} + D_{420}$ .

У молодых интенсивно окрашенных вин величина  $I$  лежит в пределах 1-3, а у выдержанных – 0,5-1.

Для характеристики качества окраски красного вина, которая зависит от соотношения антоцианов и коричневых продуктов конденсации фенольных веществ, пользуются показателем  $T = D_{420} / D_{520}$ .

Для молодых вин, в окраске которых преобладающую роль играют антоцианы,  $T < 1$ , а для старых выдержанных вин, в сложении окраски которых участвуют главным образом продукты конденсации,  $T > 1$ .

Фенольные вещества являются важными компонентами окислительно-восстановительной системы вина, вследствие чего красные вина способны потреблять большое количество кислорода – до 150 мг/дм<sup>3</sup> без отрицательного влияния на их качество. В процессе выдержки вин содержание антоцианов уменьшается в результате их окислительной конденсации, которая может проходить самопроизвольно, ферментативным или микробиологическим путем с образованием коричнево-красных соединений и полимеризации с переводом антоцианов в нерастворимое состояние.

### **Вторичные продукты спиртового брожения**

Наряду с главными продуктами брожения - спиртом и углекислым газом - образуются и вторичные продукты.

К числу вторичных продуктов относятся глицерин (г), янтарная кислота (я), уксусная кислота (у), ацетальдегид (а), 2,3-бутиленгликоль (б),

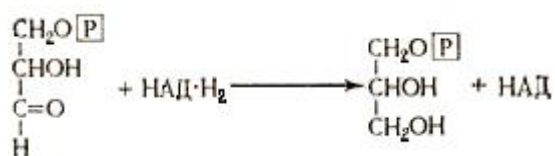
ацетоин (ац), лимонная кислота (л), пировиноградная кислота (п), изоамиловый спирт (и), изопропиловый спирт (пр), эфиры.

В. З. Гваладзе и Л. Женевау было выведено уравнение, выражающее зависимость между отдельными компонентами вторичных продуктов спиртового брожения:  $г=п+а+2у+5я+2ац+б+9л+3и+3пр$ .

Если учесть только основные компоненты, то уравнение можно упростить:  $г=п+а+2у+5я+б+2ац+9л$ .

Сумма вторичных продуктов составляет в среднем 80-92% от содержания глицерина.

Образование глицерина может быть объяснено, исходя из второй формы брожения Нейберга, называемой глицеропировиноградным брожением. Эта форма предусматривает брожение глюкозы в присутствии гидросульфита натрия, который связывает уксусный альдегид, выключая его из дальнейших реакций. Его место занимает 3-фосфоглицериновый альдегид, который, восстанавливаясь водородом, полученным от  $НАД \cdot H_2$ , превращается в 1-глицерофосфат:



3-

1-

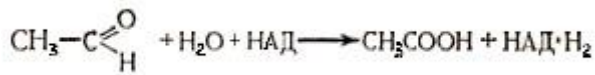
Фосфоглицериновый Глицерофосфат

альдегид

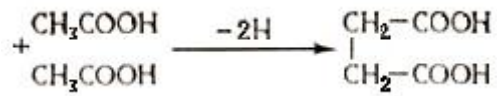
1-Глицерофосфат дефосфорилируется при участии фосфатазы, образуя глицерин.

Другим путем образования глицерина является третья форма брожения Нейберга в щелочной среде. По этой форме вместо этилового спирта образуется глицерин.

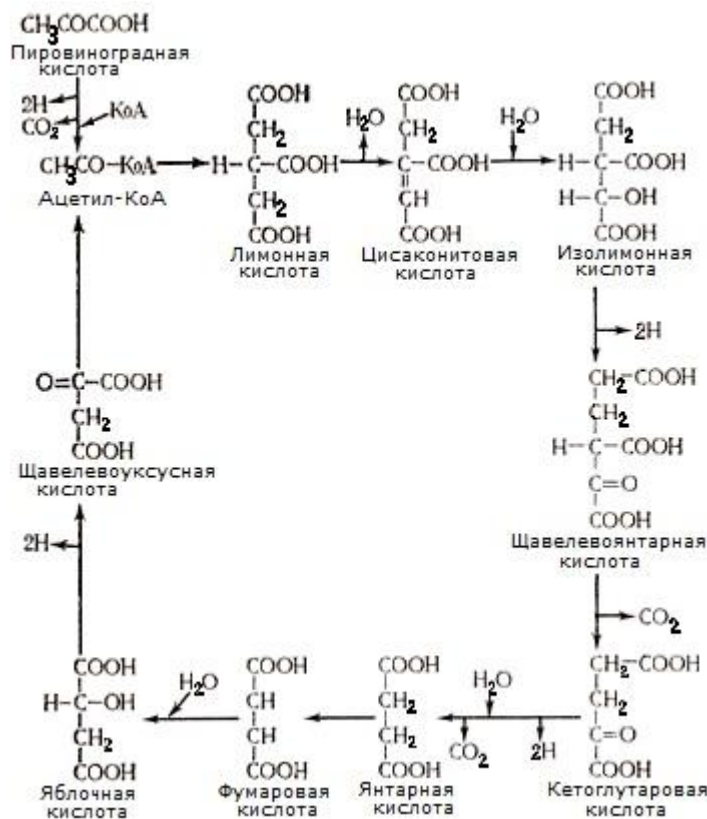
Образование уксусной кислоты объясняется окислением уксусного альдегида кислородом воды:



– В дальнейшем путем конденсации двух молекул уксусной кислоты образуется янтарная кислота (реакция Тунберга):

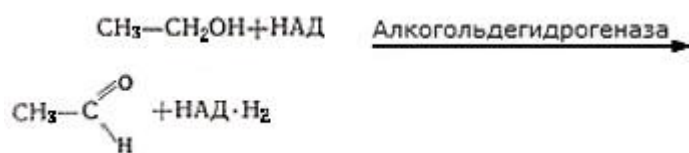


Янтарная кислота, дегидрируясь, образует fumarовую кислоту, которая путем гидратации превращается в яблочную кислоту; последняя дегидрируется в щавелевоуксусную кислоту. Щавелевоуксусная кислота, конденсируясь с новой молекулой ацетил-КоА, образует лимонную кислоту. Следовательно, образование лимонной кислоты связано с циклом Кребса, или циклом трикарбоновых кислот:



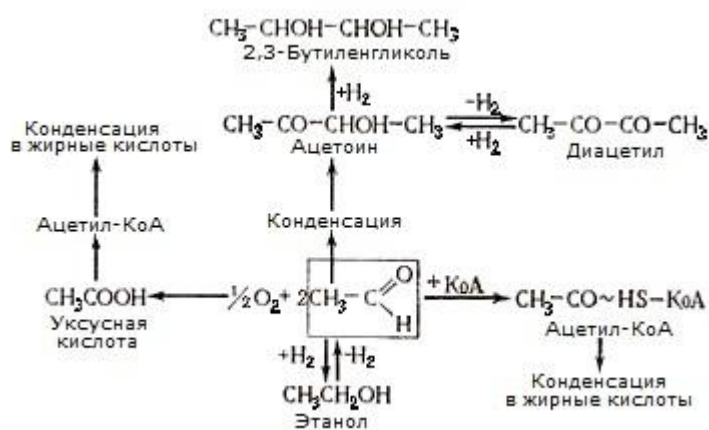
Образование молочной кислоты при спиртовом брожении происходит путем восстановления пировиноградной кислоты в присутствии  $\text{НАД}\cdot\text{H}_2$ :  
 $\text{CH}_3-\text{CO}-\text{COOH} + \text{НАД}\cdot\text{H}_2 \longrightarrow \text{CH}_3-\text{CH}(\text{OH})-\text{COOH} + \text{НАД}$ .

Уксусный альдегид образуется из сахара при нормальном спиртовом брожении. Он может также образовываться за счет окисления этилового спирта алкогольдегидрогеназой в присутствии НАД:



Уксусный альдегид образуется также за счет дезаминирования аминокислот.

Вновь полученный ацетальдегид претерпевает различные превращения:



Высшие спирты синтезируются дрожжами в процессе брожения. В их состав входит около 50 высших спиртов, образующих 90-95% сивушного масла. Главными компонентами являются изоамиловый, изобутиловый и *n*-пропиловый спирты, составляющие 85-93%.

Высшие спирты синтезируются следующим путем:



Образование вторичных продуктов происходит неравномерно в процессе спиртового брожения.

Так, накопление глицерина наиболее интенсивно в начале спиртового брожения, пока в среде мало ацетальдегида. Всего в этот период используется 6-7% сахара, в том числе 2,5,% на образование глицерина.

Содержание ацетальдегида быстро возрастает в первый период брожения (до 100-150 мг/л), после чего устанавливается равновесие между его образованием и расходом.

Уксусная кислота образуется более интенсивно в начале брожения. Это объясняется возрастом дрожжей: молодые дрожжи образуют больше уксусной кислоты, чем старые.

На соотношение между вторичными продуктами брожения влияют аэрация, рН среды, температура брожения, первоначальный состав сусле. Образование янтарной кислоты возрастает при аэрации сусле и уменьшается в анаэробных условиях. Наоборот, образование уксусной кислоты, 2,3-бутиленгликоля и ацетоина возрастает в анаэробных условиях и уменьшается при аэрации сусле.

При  $\text{pH} > 3,0$  увеличивается интенсивность глицеропировиноградного брожения, что приводит к уменьшению выхода этилового спирта. С увеличением рН образование глицерина, а также уксусной и янтарной кислот возрастает. При этом янтарной кислоты образуется меньше, чем уксусной.

При  $\text{pH} < 6,0$  уксусной кислоты образуется много лишь в начале брожения. При рН 7,5 (в щелочной среде) уксусная кислота образуется с одинаковой интенсивностью на всех стадиях брожения. Повышение рН в анаэробных условиях приводит к уменьшению содержания ацетоина и 2,3-бутиленгликоля.

На выход вторичных продуктов оказывает влияние и раса дрожжей. По данным Женева, янтарогенные дрожжи при низкой температуре ( $7^{\circ}\text{C}$ ) вызывают значительное накопление уксусной кислоты (в 2-3 раза больше, чем обычно). Это объясняется торможением конденсации уксусной кислоты в янтарную в начале брожения. При температуре  $20^{\circ}\text{C}$  накопление янтарной кислоты идет нормально. При высокой температуре брожения ( $30-35^{\circ}\text{C}$ )

преобладает глицеропировиноградное брожение с образованием глицерина. При этом содержание янтарной кислоты уменьшается, а количество ацетальдегида, ацетоина и 2,3-бутиленгликоля увеличивается.

Наименьшее количество летучих кислот образуется при температуре 15-20°C, в то время как понижение температуры до 5°C и повышение до 35°C приводят к увеличению содержания летучих кислот в бродящей среде.

По данным Э. Пейно, в анаэробных условиях образуется больше летучих кислот, а при аэрации больше этилацетата.

На содержание вторичных продуктов влияет и состав сусла. Чем больше в сусле сахара, тем выше содержание уксусной кислоты, ацетальдегида, глицерина, 2,3-бутиленгликоля.

На конечный состав вина оказывает влияние и содержание витаминов в сусле. Отсутствие пантотеновой кислоты усиливает глицеропировиноградное брожение и приводит к образованию больших количеств глицерина, уксусной кислоты и 2,3-бутиленгликоля. Отсутствие мезоинозита или биотина уменьшает образование глицерина и янтарной кислоты. В отсутствие тиамин уменьшается образование ацетона и 2,3-бутиленгликоля.

Содержание аминокислот в сусле также влияет на соотношение вторичных продуктов. Так, валин, аргинин и цистеин способствуют накоплению уксусной кислоты, аргинин - ацетальдегида и 2,3-бутиленгликоля, цистеин - янтарной кислоты. При введении в сусло аммиачного азота увеличивается содержание уксусной кислоты и 2,3-бутиленгликоля.

Опыты, проведенные С. В. Дурмишидзе с использованием радиоактивного углерода  $^{14}\text{C}$ , показали способность винных дрожжей использовать вторичные продукты брожения. При этом оказалось, что наиболее интенсивно они используют уксусную кислоту, ацетальдегид и этиловый спирт, менее энергично молочную кислоту, углекислый газ и янтарную кислоту и наименее энергично - глицерин. При этом из уксусной кислоты и уксусного альдегида образуются этиловый спирт, янтарная,

фумаровая и гликолевая кислоты, 2,3-бутиленгликоль и глицерин и совсем не образуются молочная и яблочная кислоты.

По данным С. В. Дурмишидзе, некоторые вторичные продукты брожения (ацетальдегид, уксусная и янтарная кислоты, а также этиловый спирт) могут частично превращаться в трегалозу дрожжей, которая в свою очередь подвергается эндогенным (внутриклеточным) превращениям. При размножении и росте дрожжей ацетальдегид, этиловый спирт, уксусная и янтарная кислоты включаются в аминокислоты, а впоследствии и в белки.

Это свидетельствует о важной роли вторичных продуктов в обмене веществ дрожжевой клетки. Правильным выбором расы дрожжей и регулированием аэрации, температуры и других условий можно обеспечить оптимальное соотношение вторичных продуктов в вине.

## **6. Ферментные системы дрожжей.**

Спиртовое брожение - важный и очень сложный биохимический процесс, в результате которого сахара суслу превращаются в этиловый спирт и углекислый газ и ряд вторичных продуктов, играющих важную роль в формировании букета и вкуса вина.

Сложный процесс разложения сахара на этиловый спирт и углекислый газ осуществляется благодаря комплексу бродильных ферментов дрожжей, названному зимазой (гексокиназа, альдолаза, изомераза, энолаза и др.).

Дрожжи помимо комплекса зимазы очень богаты и другими ферментами. Всего в их составе обнаружено около 90 ферментов. Среди них из группы гидролаз практическое значение имеют  $\beta$ -амилаза (гликогеназа), при помощи которой происходит гидролиз гликогена - запасного питательного вещества, отлагающегося в дрожжевых клетках;  $\alpha$ -глюкозидаза (мальтаза), вызывающая гидролиз мальтозы, и  $\beta$ -фруктофуранозидаза, гидролизующая сахарозу до глюкозы и фруктозы. Наличием этих ферментов объясняется способность дрожжей сбраживать мальтозу и сахарозу.

Из автолизата дрожжей выделены и протеолитические ферменты, в частности эндопептидаза, вызывающая гидролиз белков.

Из органических фосфатаз значение имеют АТФ-монофосфатаза и АТФ-дифосфатаза, участвующие в гидролитическом расщеплении эфиров фосфорной кислоты.

Из группы оксидоредуктаз в дрожжах найдены разнообразные дегидразы, цитохромоксидаза, кокарбоксилаза, алкогольдегидрогеназа.

Обилием ферментов объясняется многообразие биохимических процессов при приготовлении и выдержке вин.

В процессе производства натуральных вин с остаточным сахаром необходимо решить две технологические задачи – остановить брожение суслу на требуемом уровне содержания сахара и придать виноматериалу гарантированную стабильность против забраживания на всех последующих стадиях приготовления вина.

Важная роль при этом принадлежит дрожжам и другим микроорганизмам.

Роль ингибиторов бродильной активности дрожжей играет этиловый спирт, который уменьшает и затем останавливает ассимиляцию азотистых веществ. Спирт подавляет рост дрожжей и снижает интенсивность брожения уже в небольших дозах, начиная с забраживания. Повышение температуры усиливает ингибирующее действие спирта. Объемная доля этилового спирта, образуемого дрожжами при брожении, может достигать 19% об.

Концентрация сахара, превышающая 20% также обладает ингибирующим действием на дрожжи и способствует преждевременной остановке брожения.

Ингибирование сахаром объясняется явлением осмоса – для нормального функционирования клетки дрожжей должны находиться в растворе с осмотическим давлением меньшим, чем давление содержимого вакуолей, в противном случае клетка будет в той или иной степени плазмолизирована.

Показатель стабильности к забраживанию вин, содержащих сахар (показатель Делле), является функцией сахаристости и спиртуозности и суммирует их ингибирующее действие. Если показатель имеет значение менее 80, вино является биологически нестойким, оно сохраняет способность к забраживанию.

Определяющим фактором регулирования роста и активности дрожжей, ответственных за брожение, является термическое воздействие. Высокие температуры, по сравнению с холодом, вызывают у дрожжевых клеток более глубокий тепловой повреждающий эффект.

Термоустойчивость дрожжевых микроорганизмов зависит от уровня их метаболической активности и от состава среды и находится на уровне 73-75°C, при достижении которого клетки отмирают. В присутствии этилового спирта термоустойчивость клеток дрожжей заметно снижается и температура пастеризации бродящего виноградного сусла  $T_0$  выражается уравнением

$$T_0 = 75 - 1,5C$$

где

75 – температура пастеризации исходного сусла, °C;

1,5 – эмпирический коэффициент;

C – объемная доля этилового спирта, %.

Тепловая обработка бродящего сусла неизбежно приводит к взаимодействию аминокислот с углеводами с участием в нем аминов, полипептидов, а также соединений, имеющих карбонильные группы или способных их образовывать – альдегидов, органических кислот, полифенолов. Результатом такого взаимодействия является потемнение реакционной среды с накоплением альдегидов, образования диоксида углерода, аммиака, появление различных ароматов, которые в большинстве случаев придают нежелательные оттенки натуральному вину.

Дрожжи чрезвычайно устойчивы к холоду и сохраняют жизнеспособность даже при температуре минус 200°C. Некоторые их виды

могут медленно размножаться и сбраживать сусло при 0°C, однако их бродильная способность подавляется при температуре -2°C -3°C.

Рост дрожжей и накопление ими биомассы, необходимой для инициирования забраживания, зависит от состава сусла и концентрации отдельных их компонентов.

Наиболее ценным азотистым питанием для дрожжей служит аммиачный азот, который содержится в сусле в количестве 25-100 мг/дм<sup>3</sup>. Дрожжи способны потребляя аммиачный азот, образовывать сложные соединения – аминокислоты, затем полипептиды, протеины. Весь аммиачный азот поглощается дрожжами за 48 часов во время размножения. Обоedнение сусла азотистыми веществами (до 50 мг/дм<sup>3</sup> и менее) например, в результате использования метода биологической стерилизации стабилизирует вино к забраживанию даже при наличии остаточного сахара. Стойкость вин с остаточным сахаром против забраживания может быть достигнута путем их фильтрации через слой ионнообменной смолы-катионита. При этом из вина удаляются катионы металлов и значительное количество катионов аммония и аминокислот, необходимых для развития и жизнедеятельности дрожжей. На место этих катионов реакционно-способные группы смолы, находящиеся в водородной форме, посылают в среду ионы водорода, образуя свободные винную и яблочную кислоты.

В то же время остаточные сахара служат прекрасным субстратом для развития молочнокислых бактерий, которые образуют в вине молочную и уксусную кислоты. Кроме того, используя фруктозу, эти бактерии продуцируют шестиатомный спирт – маннит, который в сочетании с уксусной кислотой и сахаром придает вину неприятный кисло-сладкий вкус.

Малоокисленные полусухие и полусладкие вина получают в результате использования термотолерантных штаммов винных дрожжей. Эти дрожжи обладают высокой биохимической активностью и синтезирующей способностью, обуславливают получение виноматериалов с пониженным

содержанием высших спиртов, придающих винам сивушный тон, диацетила и ацетоина и повышенным – редуктонов.

При атмосферном давлении диоксид углерода почти не оказывает ингибирующего влияния на рост дрожжей и брожение. При избыточном давлении  $\text{CO}_2$  тормозит или даже подавляет размножение дрожжей.

Дрожжи чувствительны к действию различных антисептиков, из которых в виноделии наибольшее распространение получил диоксид серы. В сусле и вине он может находиться в виде недиссоциированной кислоты  $\text{H}_2\text{SO}_3$  и ее ионной формы  $\text{HSO}_3$  и  $\text{SO}_2$ , а также в соединении с альдегидами, сахарами, красящими веществами, кетокислотами и др. Только свободные формы сернистой кислоты  $\text{H}_2\text{SO}_3$ ,  $\text{HSO}_3$  и  $\text{SO}_2$  являются биологически активными и обладают антисептическим действием.

Дрожжи, находящиеся в стадии размножения и брожения, обладают наибольшей устойчивостью к  $\text{SO}_2$ . Поэтому, чтобы остановить брожение путем добавления диоксида серы необходима доза  $1000 \text{ мг/дм}^3 \text{ SO}_2$  и более. В то же время предотвратить забраживание сусла можно внесением  $200\text{-}300 \text{ мг/дм}^3 \text{ SO}_2$ , однако с течением времени такое высокосульфитированное сусло полностью выбраживает. Следует заметить, что высокая концентрация  $\text{SO}_2$  в исходном сусле нежелательна, так как она служит причиной образования ацетальдегида и появления тона окисленности.

Доза  $\text{SO}_2$  зависит также от температуры, pH среды и расы дрожжей, поэтому целесообразно его использовать в совокупности с другими консервантами, например, сорбиновой кислотой, однако в разрешенной дозе, не оказывающей отрицательного влияния на вкус вина ( $200 \text{ мг/дм}^3$ ). Сорбиновая кислота не действует на молочнокислые бактерии. Развитие этих бактерий вызывает нежелательный гераниевый тон.

5-нитрофурилакриловая кислота (5-НФА) подавляет рост и размножение микроорганизмов вследствие необратимого окисления ферментов в результате взаимодействия группы  $\text{NO}_2$  с ферментативными системами микробов.

Большинство химических консервантов – 5-НФА, феноксиуксусная кислота, эфиры тиосульфокислот, аллилгорчичное масло (аллилизотиоцианат) и другие в чистом виде применяются редко, так как в дозах, необходимых для достижения надежного консервирующего эффекта они ухудшают качество вина. Лучшие результаты достигаются при применении пониженных дозировок этих консервантов в сочетании с диоксидом серы и другими веществами.

Бактерицидным действием на микробы обладают также диэтиловый эфир пирогальной кислоты, серебро, озон, лучистая энергия, магнитное поле. Практическое применение этих факторов ограничено.