

**Анотація.** У статті наведено результати експериментальних досліджень з використання азотно-вітамінних добавок на стадії виноградного суслу при виробництві шампанських виноматеріалів. Показано, що під час спиртового бродіння азотне живлення впливає на динаміку біомаси дріжджів, фізико-хімічний склад суслу, отриманого з винограду сортів Шардоне та Пино Нуар.

**Ключові слова:** азотні добавки, біомаса дріжджів, фізико-хімічні властивості, бродіння суслу.

**Анотация.** В статье приведены результаты экспериментальных исследований использования азотно-витаминных добавок на стадии виноградного суслу при производстве шампанских виноматериалов. Показано, что в ходе спиртового брожения азотное питание влияет на динамику биомассы дрожжей, физико-химический состав суслу, полученного из винограда сортов Шардоне и Пино Нуар.

**Ключевые слова:** азотные добавки, биомасса дрожжей, физико-химические свойства, брожение суслу.

УДК 663.225/15

## ВЛИЯНИЕ АЗОТНО-ВИТАМИННЫХ ДОБАВОК НА ПРОЦЕСС СПИРТОВОГО БРОЖЕНИЯ

О. Б. Ткаченко

доктор технических наук, доцент  
кафедра технологии вина и энологии\*

oksana\_tkachenko@mail.ru

Л.С. Гураль

кандидат технических наук, доцент  
кафедра пищевой химии\*

loris\_shum@ukr.net

С. С. Древова

аспирант

Кафедра технологии вина и энологии\*  
svetik\_shum@mail.ru\*Одесская национальная академия пищевых технологий  
ул. Канатная, 112, г. Одесса, Украина, 65039

### Введение

Азот является преобладающим макроэлементом виноградной лозы почвенного происхождения и играет важную роль во многих биологических функциях и процессах как самого растения, так и микроорганизмов, способных вызывать ферментацию. Манипуляция азотным питанием на винограднике дает возможность потенциально влиять на качественные показатели виноградной ягоды и, как следствие, вина. Кроме того, кинетика спиртового брожения и аромат – образующий комплекс виноподпродукции зависит от количества азота в сусле, который дополнительно, при необходимости, может вноситься в качестве питательных веществ на предприятиях первичного виноделия. Увеличение содержания данного компонента можно достичь за счет усвояемых дрожжами форм – минеральных и органических [1,2].

### Литературный обзор

В научной литературе представлен широкий спектр результатов исследований по применению азотного питания в виноградарстве и виноделии.

Известно, что азот оказывает существенное влияние на цвет, аромат, вкус и стабильность вина, а также на формирование типичных свойств виноматериалов для игристых вин. Так подкормка винограда азотистыми веществами оказывает существенное влияние на ароматический потенциал виноградной ягоды. Высокое содержание азота в виноградном растении стимулирует накопление повышенного содержания веществ – предшественников цистеина и глутатиона. Эти соединения

являются сильными восстановителями и способны защищать сортовой аромат вин, например, из винограда сортов, относящихся к тиоловой ароматической группе, таких как Совиньон Блан. Основная роль азотистых веществ, в процессе формирования вин, заключается в том, что они являются необходимым питательным материалом для дрожжей во время спиртового брожения, оказывая косвенное или прямое влияние на физико-химический состав виноматериалов. Некоторые азотистые вещества вступают во взаимодействие с другими соединениями и участвуют в процессе их окисления, что является нежелательным для шампанских виноматериалов. Недостаточное количество азотсодержащих компонентов способствует образованию сероводорода и, к сожалению, появлению признаков нетипичного старения вина. Значительный вклад в пенообразование игристых вин вносят аминокислоты, белки и общий азот. Низкое содержание их в шампанских виноматериалах приводит к снижению пенящих свойств [1-5].

Однако непосредственное управление поступлением азотсодержащих веществ в системе «виноград – вино», с целью получения оптимальных физико-химических и сенсорных характеристик шампанских виноматериалов, до конца не исследовано.

### Основная часть

Цель работы – изучение влияния азотно-витаминных добавок, внесенных в виноградное сусло, на динамику биомассы дрожжей и физико-химический состав суслу в процессе спиртового брожения.

Объект исследований – виноградное сусло, полученное из винограда сортов Шардоне и Пино Нуар урожая 2013 года с массовой концентрацией сахаров 186 г/дм<sup>3</sup>. Виноград был переработан в условиях отдела микробиологии ННЦ «ИВиВ им. В.Е. Таирова» в соответствии с ДСТУ 4804:2007 «Виноматериалы для шампанского Украины та вин ігристих».

В качестве источника азотистого питания использовали биологические активирующие препараты нового поколения, обогащающие сусло питательными веществами, необходимыми для метаболизма дрожжей, улучшая, тем самым, процесс спиртового брожения и избегая его прерывания по биохимическим причинам.

«Актиферм» – препарат, применяемый для активизации процесса ферментации, и как следствие, стимуляции роста и увеличения биомассы дрожжей. Он содержит тиамин (Витамин В1), усвояемую форму азота (в частности аммиачный азот) и инактивированные дрожжи.

«Актиферм Органик» – препарат, используемый для стабилизации процесса ферментации, состоит из специально отобранных инактивированных дрожжей, которые обеспечивают сусло необходимыми питательными веществами (азот аминокислот, витамины, липиды). Применяется

для суслу с незначительным дефицитом азота в начале брожения.

Следует отметить, что управление менеджментом азота происходит в два этапа: первый – регулирование концентрации макроэлементов на винограднике, учитывая генетику растения, сорт винограда и местность его произрастания; второй – внесение в сусло диаммоний фосфат, витаминов с учетом выбора оптимальных условий ферментации. Этот аспект подчеркивает необходимость мониторинга азота не только в условиях произрастания виноградных насаждений, но и в сусле непосредственно перед спиртовым брожением [1,6].

Схема эксперимента предусматривает предварительное внесение в осветленное сульфитированное сусло препарата активных сухих дрожжей «Витилевор DV 10» (рис. 1). Одновременно с введением дрожжей вносили подкормку «Актиферм» и «Актиферм Органик». Контролем служило бродящее сусло с использованием указанной расы дрожжей без внесения подкормок. Процесс брожения осветленного суслу из винограда сортов Шардоне и Пино Нуар был реализован в течение 7 суток при температуре 18 °С. Для изучения динамики физико-химических и микробиологических показателей в процессе брожения один раз в сутки отбирали пробы бродящего суслу.



Рис. 1. Схема экспериментальных исследований

В исследуемых образцах определяли показатель pH потенциометрическим методом; объемную долю этилового спирта ареометрическим методом по разности плотностей суслу до начала и в момент брожения; массовую концентрацию сахаров ареометрическим методом; массовую концентрацию аминокислот азота методом формольного титрования; массовую концентрацию винной кислоты колориметрическим методом (метод МОВВ) [7]; концентрацию дрожжей в 1 см<sup>3</sup> жидкости определяли микроскопически в счетной камере Горяева [8] по формуле:

$$x = a \times 50000 \times b, \quad (1)$$

где  $a$  – сумма клеток пяти больших квадратов;

$b$  – разведение исходной суспензии микроорганизмов;

50000 – коэффициент пересчета объема пяти больших квадратов на 1 см<sup>3</sup>.

Результаты экспериментальных исследований по влиянию условий брожения (присутствие различных азотно-витаминных подкормок, контролируемая температура процесса ферментации) на физико-химические показатели суслу из различных сортов винограда приведены в табл. 1.

Анализ данных, представленных в табл. 1, свидетельствует о том, что в процессе брожения во всех образцах наблюдалось снижение массовой концентрации сахаров. Однако скорость ферментации, значительным образом, зависела от внесения различных препаратов подкормки.

Через 6 сут спиртового брожения суслу на расе дрожжей «Витилевор DV 10» в опытных образцах массовая концентрация сахаров составила 2,0 г/дм<sup>3</sup>, что свидетельствует об окончании процесса ферментации.

Таблиця 1 – Динаміка накоплення біомаси дрожжей і фізико-хімічних показателів в процесі спиртового бродіння суслу із винограда сортів Шардоне і Піно Нуар

Бродящее сусло	Шардоне																	
	контроль						«Актиферм»						«Актиферм Органик»					
Подкормка	контроль						«Актиферм»						«Актиферм Органик»					
Сутки	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Сахар, г/дм <sup>3</sup>	186	180	159	111	66	43	2,2	180	154	138	87	11	2	180	142	124	76	8
Спирт, % об	0,0	0,4	1,6	4,5	7,2	8,6	11,1	10,4	1,6	2,9	5,9	10,5	11,2	0,4	2,6	3,7	6,6	10,7
Біомаса, млн/см <sup>3</sup>	2,0	7,0	23,8	68,0	86,0	78,0	52,0	3,4	7,0	88,0	110,0	135,5	100,0	3,6	9,0	93,2	125,4	148,0
Бродящее сусло	Піно Нуар																	
Подкормка	контроль						«Актиферм»						«Актиферм Органик»					
Сутки	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Сахар, г/дм <sup>3</sup>	186	180	156	127	87	66,0	2,2	183	164	146	74	24	2	180	156	135	80	8,0
Спирт, % об	0,0	0,3	1,5	3,8	5,9	7,3	11,1	10,2	1,3	2,4	6,7	9,7	11,2	0,4	1,8	3,1	6,4	10,7
Біомаса, млн/см <sup>3</sup>	2,1	6,6	19,8	37,5	64,0	58,0	50,3	3,8	6,5	76,8	99,5	120,0	99,3	3,9	8,2	89,0	112,9	142,0

При этом в контрольных образцах она варьировала в пределах от 43 г/дм<sup>3</sup> до 66 г/дм<sup>3</sup> для суслу из Шардоне и Піно Нуар соответственно. Это подтверждается соответствующими показателями объемной доли этилового спирта, которые составили 8,6 % и 7,3 % соответственно. При использовании «Актиферм Органик» установлено, что препарат способствует быстрому снижению массовой концентрации сахаров и накоплению этилового спирта. Отмечено, что на 2 сут ферментации значение данных показателей составляли для суслу Шардоне 142 г/дм<sup>3</sup> и 2,6 % об, для суслу Піно Нуар – 156 г/дм<sup>3</sup> и 1,8 % об. «Актиферм», как полноценный источник питания для дрожжей, несколько уступал по этим показателям препарату «Актиферм Органик».

Таким образом, при использовании дополнительного азотистого питания, за счет внесения в сусло коммерческих подкормок, при регулируемой температуре брожения, бродильная активность дрожжей увеличивалась, и сам процесс ферментации заканчивался быстрее. Также можно отметить, что природа активаторов брожения оказывает существенное влияние на скорость и эффективность протекания спиртового брожения.

Динамика роста культуры дрожжей в исследуемых образцах имела более выраженный резкий скачок в середине процесса брожения при внесении подкормок. Наличие дополнительных источников азотистого питания способствовало усиленному накоплению больших количеств биомассы дрожжей.

Следует отметить, что на 2-е сутки спиртового брожения при использовании подкормки «Актиферм Органик» наблюдалось более быстрое образование сахаров и, следовательно, увеличение популяции дрожжей.

Полученные нами результаты по исследованию влияния азотсодержащих добавок на увеличе-

ние дрожжевой биомассы и физико-химических свойств виноградного суслу согласуются с литературными данными. Низкие значения усвояемого азота в сусле приводят к уменьшению популяции дрожжей и снижению энергии ферментации, возникновению риска остановки брожения, увеличению содержания в бродящей среде нежелательных тиолов, высших спиртов, снижению массовой доли сложных эфиров и летучих жирных кислот. И наоборот, высокая концентрация азота в сусле способствует накоплению дрожжевых клеток за счет интенсивной скорости брожения и повышенному образованию уксусноэтилового эфира, летучих кислот. Также возникает риск повышения концентрации мочевины, этилового эфира карбаминной кислоты, биогенных аминов и возникновения белковых помутнений [9-11].

Результаты исследования динамики изменения показателя pH и аминного азота в условиях ферментации суслу (с использованием и без внесения активаторов брожения) представлены на рис. 2 и 3.

Исходное содержание массовой концентрации аминного азота в осветленном сусле Шардоне и Піно Нуар (272 мг/дм<sup>3</sup> и 398 мг/дм<sup>3</sup> соответственно) зависит от сорта винограда, района его произрастания, климатических и агротехнических факторов, а также от гранулометрического состава почвы, определяющего потенциал питательных веществ почвенного покрова и специализацию виноградаря.

Наблюдения за динамикой содержания данного компонента в процессе сбраживания виноградного суслу показали, что снижение этого макроэлемента происходит в течение пяти суток, в ходе дображивания его содержание увеличивается. Однако следует отметить, что концентрация показателя в сусле между контрольными (без внесения до-

полнительного азотистого питания) и опытными вариантами существенно различалась.

Анализ результатов показывает, что препараты «Актиферм» и «Актиферм Органик» повышают начальные значения аминного азота суслу

Шардоне и Піно Нуар и способствуют быстрому и эффективному прохождению процесса ферментации. Самая высокая концентрация аминного азота зафиксирована в вариантах опыта с внесением препарата «Актиферм Органик».

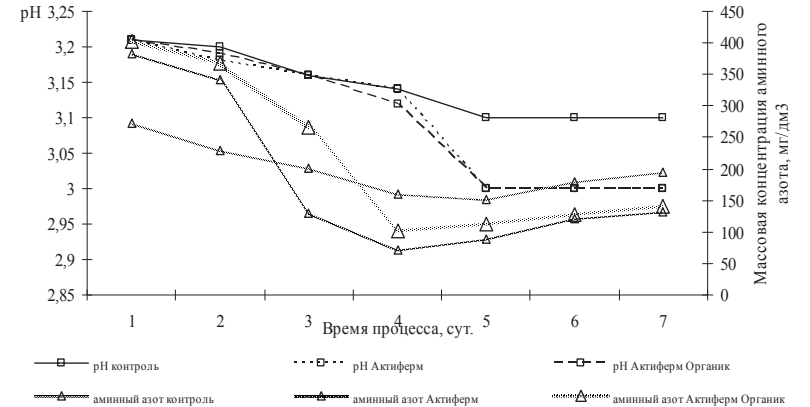


Рис. 2. Изменение показателей pH и массовой концентрации аминного азота в процессе брожения суслу из винограда сорта Шардоне

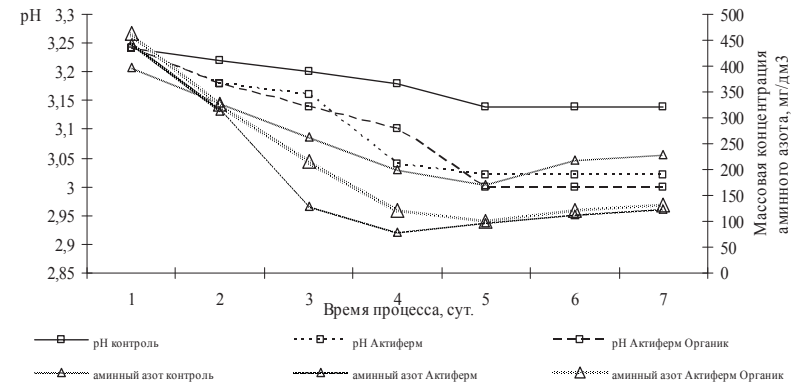


Рис. 3. Изменение показателей pH и содержания аминного азота в процессе брожения суслу из винограда сорта Піно Нуар

Минимальное содержание аминного азота в контрольных образцах на 5 сут спиртового брожения, которое находилось в пределах 151 – 171 мг/дм<sup>3</sup>, позволило обеспечить стабильную и полную ферментацию суслу без образования побочных оттенков в аромате и во вкусе.

Анализ динамики изменения показателя pH свидетельствует о его равномерном снижении в сусле при внесении подкормки. В ходе спиртового брожения при использовании в качестве азотного питания препаратов «Актиферм» и «Актиферм Ор-

ганик» наблюдается снижение pH от 3,21 до 3,0 в сусле Шардоне и pH от 3,24 до 3,0 в сусле Піно Нуар в сравнении с контрольными образцами – от 3,21 до 3,1 и от 3,24 до 3,14 соответственно. Из рисунков следует, что минимальное значение данной величины наблюдалось на 5 сут. после начала брожения и в дальнейшем оно не изменялось.

Важной составляющей вкуса шампанских виноматериалов является их гармоничная кислотность, которая определяется количественным содержанием и качественным составом органических

кислот. Следует отметить, что активная кислотность зависит, главным образом, от содержания в вине протиссоцированных кислот. В связи с этим, по величине константы диссоциации, доминирует винная кислота.

Динамика изменения массовой концентрации винной кислоты и показателя pH в процессе спиртового брожения сусле Шардоне и Пино Нуар с использованием азотно-витаминных добавок и без внесения подкормок представлена на рис. 4 и 5.

Внесение питательных веществ способствует более интенсивному и равномерному снижению

массовой концентрации винной кислоты, независимо от сорта винограда, с 6,5 до 4,7 г/дм<sup>3</sup>. При этом значения этого показателя в контрольных образцах возрастали в первые сутки брожения, достигая максимального значения на 2 сут, а затем убывали. Уже на 7 сут процесса ферментации в сусле из винограда сортов Шардоне и Пино Нуар без активаторов брожения содержание винной кислоты находилось в пределах 5,4–5,6 г/дм<sup>3</sup> соответственно.

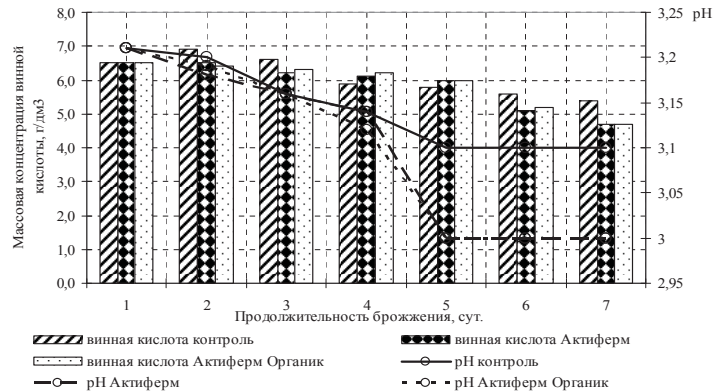


Рис. 4. Динамика изменения концентрации винной кислоты и pH при сбраживании виноградного сусле из винограда сорта Шардоне

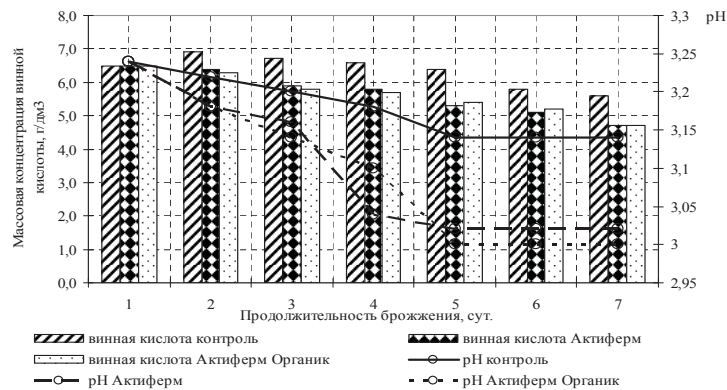


Рис. 5. Динамика изменения концентрации винной кислоты и pH при сбраживании виноградного сусле из винограда сорта Пино Нуар

Существенное влияние оказывают азотно-витаминные подкормки на органолептический профиль шампанских виноматериалов. По результатам дегустационной оценки виноматериалы, приготовленные из винограда сортов Шардоне и Пино

Нуар, в сусле которых вносили препарат «Актиферм Органик», в сравнении с образцами, где в качестве азотного питания добавляли «Актиферм», характеризовались ярко выраженным сортовым ароматом,

свежим и мягким вкусом с умеренной кислотностью в послевкусии.

#### Выводы

Таким образом, проведенные исследования позволили установить следующее:

- необходимо дифференцировано подходить к вопросу использования азотно-витаминных подкормок на стадии брожения сусле, учитывая сорт винограда, район его произрастания, а также комплекс агроклиматических и агротехнических факторов;
- массовая концентрация аминного азота в винограде сортов Шардоне и Пино Нуар, без внесения подкормок в начале спиртового брожения,

позволила обеспечить стабильную и полную ферментацию сусле, без образования посторонних от-тенков в аромате и во вкусе;

- введение в сусле питательных компонентов одновременно с чистой культурой дрожжей способствует быстрому и эффективному прохождению спиртового брожения;
- при использовании активаторов брожения наблюдается увеличение биомассы дрожжей, равномерное снижение показателя pH и массовой концентрации винной кислоты;
- азотно-витаминная подкормка «Актиферм Органик» усиливает ароматический профиль и вкусовые характеристики шампанских виноматериалов.

#### Список литературы:

1. Bell S.-J. Implications of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wine / S.-J. Bell, P. Henschke // Australian Journal of Grape and Wine Research. – 2005. – № 11. – P. 242–295.
2. Ribéreau-Gayon P. Handbook of Enology. Volume 2. The Chemistry of Wine Stabilisation and Treatments / P. Ribéreau-Gayon, Y. Glories, A. Maujean, D. Dubourdieu // John Wiley & Sons Ltd: Chichester, UK., 2000.– 404 P.
3. Rapp A. Influence of nitrogen on compounds in grapes on aroma compounds in wines / A. Rapp, G. Versini // Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin. – 1996, 51. – P. 193–203.
4. Rodriguez-Lovelle B. Carbon and nitrogen partitioning in either fruiting or non-fruiting grapevines: Effects of nitrogen limitation before and after veraison / B. Rodriguez-Lovelle, J.P. Gaudillère // Australian Journal of Grape and Wine Research. – 1996, 8. – P. 86–94.
5. Макаров А.С. Производство шампанского / А.С. Макаров. – Симферополь: Таврия, 2008. – 416 с.
6. Sugar transport inhibition and apparent loss of activity in *S.cerevisiae* on a sugar limiting factor of oenological conditions / J.M. Salmon, O. Vincent, J.C. Mauricio, M. Bely, P. Barre // American Journal of Enology and Viticulture. – 1993, 44 (1). – P. 56–64.
7. Гержилова В. Г. Методы технохимического контроля в виноделии / Под ред. В.Г. Гержиловой. - 2-е изд. – Симферополь: Таврида, 2009. – 304 с.
8. Бурьян Н. И. Микробиология виноделия / Н.И. Бурьян. – Ялта: ИВиВ "Магарач", 1997. – 431 с.
9. Effectiveness of combined ammoniacal nitrogen and oxygen additions for completion of sluggish and stuck fermentations. Journal of Fermentation and Bioengineering / J.M. Sablayrolles, C. Dubois, C. Manginot, J.L. Roustan, P. Barre // Journal of Fermentation and Bioengineering. – 1996, 82. – P. 377–381.
10. Influence of the nitrogen source on *Saccharomyces cerevisiae* anaerobic growth and product formation. Applied and Environmental Microbiology / E. Albers, C. Larsson, G. Liden, C. Niklasson, L. Gustafsson. – 1996, 62. – P. 3187–3195.
11. Bely, M. Automatic detection of assimilable nitrogen during alcoholic fermentation in oenological conditions / M. Bely, J.M. Sablayrolles, P. Barre // Journal of fermentation and bioengineering - 1990. – . 70, № 4. – P. 246-252.