

На правах рукописи

Зенина Маргарита Анатольевна

**РАЗРАБОТКА СИСТЕМЫ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ВИН
С УЧЕТОМ АСПЕКТОВ ИХ ГЕОГРАФИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ
НА ОСНОВЕ МЕТОДА МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ
СТАБИЛЬНЫХ ИЗОТОПОВ ЛЕГКИХ ЭЛЕМЕНТОВ**

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

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Краснодар – 2020

Работа выполнена в ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств» и ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов».

Научный руководитель: доктор технических наук
Колеснов Александр Юрьевич

Официальные оппоненты: **Оселедцева Инна Владимировна**
доктор технических наук, доцент, ФГБОУ
ВО «Кубанский государственный
технологический университет», начальник
Управления организации научных
исследований

Марковский Михаил Григорьевич
кандидат технических наук, ФГБНУ «Северо-
Кавказский федеральный научный центр
садоводства, виноградарства, виноделия»,
старший научный сотрудник НЦ «Виноделие»

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Воронежский государственный
университет инженерных технологий»

Защита состоится «26» марта 2020 года в 10.00 часов на заседании диссертационного совета Д 006.056.01 в ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия» по адресу: 350901, Краснодарский край, г. Краснодар, ул. им. 40-летия Победы, д. 39.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия» (<https://kubansad.ru/>).

Автореферат разослан «___» _____ 2020 года.

Отзывы на автореферат в двух экземплярах, заверенные печатью организации, с указанием почтового адреса, телефона, электронной почты и сайта организации, фамилии, имени, отчества полностью, должности лица, подготовившего отзыв, просим направлять ученому секретарю диссертационного совета по адресу: 350901, Краснодарский край, г. Краснодар, ул. им. 40-летия Победы, д. 39, тел./факс. 8 (861) 257-57-02, e-mail: kubansad@kubannet.ru

Ученый секретарь
диссертационного совета,
канд. с.-х. наук



В.В. Соколова

1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Виноградарские и винодельческие отрасли являются социально значимыми и высокорентабельными секторами агропромышленного комплекса Российской Федерации. В настоящее время обостренная конкурентная борьба приводит к появлению на рынке винодельческой продукции, не отвечающей в полной мере действующим законодательным нормам и требованиям. Для эффективного противодействия недобросовестной конкуренции и предотвращения действий, вводящих в заблуждение потребителей, необходимо расширение практических возможностей для аналитической и экспертной идентификации винодельческой продукции и совершенствования критериев надежности систем оценки качества. Результативным способом достижения этой цели является оценка качества, основанная на исследовании специфичных компонентов вина, которые остаются неизменными на протяжении всей производственной цепочки переработки винограда или манипуляция с которыми предоставляется технологически сложной или невозможной. Особую актуальность научное изучение данной темы приобретает после внесения изменений и дополнений в федеральный закон № 171-ФЗ таких понятий как «Вино с защищенным географическим указанием» (ВЗГУ) и «Вино с защищенным наименованием места происхождения» (ВЗМП).

Цель и задачи исследований. Целью исследований являлась разработка системы (алгоритма) оценки качества вин и виноматериалов с учетом аспектов их географического происхождения, определяемых природными климатическими особенностями изотопии углерода и кислорода в компонентах винограда, на основе масс-спектрометрического метода исследования отношений стабильных изотопов легких элементов и биохимического (ферментативного) анализа.

Достижение поставленной цели требовало решения следующих задач:

- теоретическое изучение степени разработанности темы в рамках анализа литературных источников;
- экспериментальные исследования особенностей фракционирования стабильных изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в компонентах красных и белых сортов винограда, выращиваемого на территории Российской Федерации, с последующим исследованием изотопного состава столовых сухих вин, изготовленных способом микровиноделия;
- экспериментальные исследования особенностей фракционирования стабильных изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в компонентах промышленных сухих вин, произведенных в Российской Федерации, странах СНГ, ближнем и дальнем зарубежье;
- анализ полученных экспериментальных данных и формирование на их основе количественных диапазонов изменения значений величины $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ для углеводов винограда и вина, этилового спирта вина, а также величины $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$ для внутриклеточной воды винограда и воды вина;

- анализ температурных условий в природных зонах (регионах) произрастания винограда;
- разработка интегрального показателя, лежащего в основе взаимосвязи климатических условий зоны выращивания винограда и изотопного состава легких элементов в его компонентах;
- разработка методов масс-спектрометрического исследования отношений стабильных изотопов углерода и кислорода в компонентах винограда, вина и виноматериалов, включая подготовку проб к измерению, исключающую нежелательные изменения изотопного состава.

Научная новизна исследований. Впервые в рамках последовательных и систематизированных исследований, учитывающих факторы географического (климатического) характера, получены научные знания о фракционировании стабильных изотопов легких элементов (углерода и кислорода) в компонентах винограда *Vitis vinifera* L. (углеводах и внутриклеточной воде), выращиваемого в ведущих винодельческих регионах Российской Федерации – Краснодарском крае, Республике Крым, Ростовской области и Республике Дагестан, а также в продуктах его переработки – сухих красных и белых столовых винах. Полученные научные данные коррелируют с результатами зарубежных исследований, демонстрирующих взаимосвязь изотопного состава углерода в высших растениях C_3 -пути фотосинтеза с природными факторами, в т.ч. с температурой и связанным с ней водным балансом растений. Выявлены закономерности фракционирования стабильных изотопов углерода в зависимости от основного географического (климатического) фактора – температуры региона произрастания винограда. Предложен новый показатель – интегральный температурный индекс для использования при оценке географического происхождения винограда и вин. Впервые показана зависимость между интегральным температурным индексом и составом изотопов углерода в углеводах винограда (*Vitis vinifera* L.). Новые научные знания коррелируют с экспериментальными данными, полученными ранее в зарубежных исследованиях для других растений C_3 -пути фотосинтеза – пшеницы летней (*Triticum aestivum* L.), посевного риса (*Oryza sativa* L.), лебеды копьевидной (*Atriplex hesitate* L.), посевной редьки (*Raphanus sativus* L.), помидоров (*Lycopersicum esculentum* Mill.) и обыкновенного хлопчатника (*Gossypium hirsutum* L.). Получены корреляционные зависимости, основанные на экспериментальных данных состава стабильных изотопов углерода ($\delta^{13}C_{VPDB}$) в углеводах и температурных характеристиках зон выращивания винограда для оценки географического происхождения продукции. Разработаны методы масс-спектрометрического исследования отношений стабильных изотопов легких элементов в компонентах винограда, виноматериалов и вина, включая подготовку проб к измерению, исключающие нежелательные изменения изотопного состава. Разработана система (алгоритм) оценки качества винодельческой продукции на основе масс-спектрометрии отношений стабильных изотопов легких элементов, учитывающая климатические условия выращивания винограда и, соответственно, географическое происхождение продукции.

Теоретическая и практическая значимость работы. Разработанная система (алгоритм) оценки качества позволяет провести идентификацию винодельческой продукции с оценкой ее географического происхождения, что в свою очередь способствует идентификации вин ВЗГУ/ВЗНМП, выявлению недопустимых манипуляций с составом продуктов (напр., добавление спиртов и/или сахаров невиноградного происхождения, разбавление водой) и получению объективной и достоверной информации о качестве основных и специфических свойствах вин. В конечном итоге применение системы способствует повышению эффективности контроля за соблюдением участниками рыночной деятельности нормативных требований, а также обеспечивает реализацию мер по саморегулированию рынка винодельческой продукции в сфере её качества (подлинности).

Полученные научные знания о фракционировании изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в компонентах винограда и вина могут быть использованы при ведении федерального реестра виноградных насаждений Министерством сельского хозяйства Российской Федерации согласно постановлению Правительства Российской Федерации «О ведении реестра виноградных насаждений» от 15.11.2016 г. № 1195.

Результаты экспериментальных исследований, полученные в ходе работы, в перспективе могут представлять основу для разработки единой информационной базы научных данных Российской Федерации о специфических компонентах, входящих в физико-химический состав винограда, вина и виноматериалов, определяемого географическими, климатическими и технологическими факторами, что предоставит практические возможности, например, для обеспечения прослеживаемости партий продукции и условий добросовестной конкуренции на рынке Евразийского Экономического Союза (ЕАЭС) / Таможенного союза (ТС), а также на рынках других стран, в которые российские изготовители осуществляют экспорт своих продуктов.

Методологии исследования. На основе комплексного подхода при решении поставленных задач и проведении экспериментальных исследований использовались стандартные и специальные методы: биохимический (ферментативный), масс-спектрометрический метод исследования состава стабильных изотопов углерода (FC-IRMS/SIRA), масс-спектрометрический метод исследования состава стабильных изотопов кислорода (EQ-IRMS/SIRA) и газо-хромато-масс-спектрометрический метод исследования состава углерода (GC-IRMS/SIRA), а также статистические методы обработки данных.

Положения, выносимые на защиту. На защиту выносятся следующие основные положения:

1. Способы отбора образцов винограда, выращиваемых в ведущих винодельческих регионах Российской Федерации – Краснодарский край, Ростовская область, Крым, Республика Дагестан с оценкой температурных условий их вы-

ращивания, принципиальные технологические схемы получения сусел и экспериментальных вин.

2. Методы масс-спектрометрического исследования изотопного состава углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в компонентах винограда, вина и виноматериалов, включающие способы подготовки проб, измерения и интерпретации результатов.

3. Совокупность результатов экспериментальных исследований природного фракционирования стабильных изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в компонентах винограда и вина с учетом географических (климатических) условий выращивания винограда.

4. Система (алгоритм) оценки качества винодельческой продукции на основе метода масс-спектрометрии стабильных изотопов легких элементов и прецизионных методов анализа их физико-химического состава.

Степень достоверности и апробация работы. Достоверность полученных данных подтверждается комплексным теоретическим и экспериментальным подходом автора к изучению влияния географических (климатических) условий на характер природного фракционирования стабильных изотопов легких элементов в компонентах винограда и полученных из них столовых вин, а также анализом и обобщением исследовательского материала с помощью статистической обработки программами MS Excel и Statistica 10.0.

Научные знания, полученные в рамках выполненной работы, коррелируют с глобальной базой научных знаний, которую формируют результаты фундаментальных и прикладных работ российских и зарубежных исследовательских коллективов.

Основные результаты исследования в целях их апробации представлены лично автором работы, а также в соавторстве на конгрессах, конференциях, форумах и семинарах международного, регионального и национального уровней, в т.ч. на The 41st World Congress of Vine and Wine «Shaping the future: Production and market challenges» (Уругвай, 2018); VI International Congress on mountain and steep slope viticulture «Heroic viticulture: from grape to wine through sustainability and quality» (Испания, 2018); Научно-практическом семинаре в Institut des Sciences de la Vigne et du Vin (Франция, 2017); The 40th World Congress of Vine and Wine «Vine & Wine: Science and Economy, Culture and Education» (Болгария, 2017); Конференции с международным участием «Развитие пищевой и перерабатывающей промышленности России: кадры и наука» (г. Москва, 2017); IX Международном конгрессе «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (г. Москва, 2017); V Международной научно-практической конференции «Биотехнология: наука и практика» (Крым, 2017); 1 Международной научно-технической конференции «Инновационный мир современного виноградарства и виноделия: Россия (InnoWine Russia – 2017)» (г. Краснодар, 2017); IV Международном форуме «Антиконтрафакт – 2016» (Республика Армения, 2016); Научно-практической конференции «Вопросы продовольственного обеспечения в XXI веке (Товаровед 2016)»

(г. Москва, 2016); VI Международной конференции «International Conference of the ESES «Genetics, Biotechnology and Sustainable Development in Safe Environment» (Египет, 2015).

Разработки автора, выполненные в рамках диссертационной работы и основные результаты исследований, были отмечены наградами – Золотой медалью на XIII Международном салоне изобретений и новых технологий «Новое время» (г. Севастополь, 2017); Серебряной медалью на XI Международном биотехнологическом форуме-выставке «РосБиоТех – 2017» (г. Москва, 2017); Дипломом финалиста конкурса молодых ученых IX Международного конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (г. Москва, 2017).

Личный вклад автора. Проведен литературный поиск и анализ опубликованных научных данных по тематике работы, сформирован план экспериментальных исследований, проведены научные эксперименты с использованием разработанных методологий масс-спектрометрических исследований изотопного состава углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в компонентах винограда, вина и виноматериалах, осуществлена статистическая обработка и оценка полученных результатов с последующей разработкой системы (алгоритма) оценки качества винодельческой продукции, подготовлены публикации по основным результатам исследований в соавторстве научных статей, а также проведено практическое внедрение разработанной системы (алгоритма) оценки качества винодельческой продукции.

Публикации результатов исследований. По тематике диссертации опубликовано 17 научных работ, в т.ч.: 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ, 2 статьи в изданиях, индексируемых в Web of Science, 1 статья в издании, индексируемом в Scopus, 3 статьи, опубликованные в других научных изданиях, и 8 материалов по результатам конференций, конгрессов и форумов.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, обзора отечественной и зарубежной научно-технической литературы, трех глав, оценки экономической эффективности, заключения, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, приложений. Работа изложена на 162 страницах основного текста, включает 30 таблиц и 31 рисунок. Список литературных источников содержит 193 наименований, в т.ч. 103 публикации на иностранных языках.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В обзоре литературы представлены разделы о состоянии российского рынка вина в сфере его качества и безопасности, вопросы присутствия на рынке недоброкачественной продукции, общие методы оценки качества вин, включая основные и современные методы их идентификации, основанные на фундаментальных знаниях о природе фракционирования стабильных изотопов в компонентах винограда и продуктах его переработки – винах.

2 ПРЕДМЕТ И ОБЪЕКТ ИССЛЕДОВАНИЙ, УСЛОВИЯ, МЕТОДЫ

2.1 Предмет и объект исследований

Предмет исследований – состав стабильных изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в углеводах винограда и экспериментальных винах, а также состав стабильных изотопов кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ во внутриклеточной воде винограда и воде вин.

Объект исследований – природное фракционирование стабильных изотопов углерода и кислорода в винограде как растения C_3 -пути фотосинтеза, а также возможные изменения изотопного состава, возникающие в ходе применения технологических процессов переработки винограда на вино. В исследовании использовали виноград красных и белых сортов (Каберне Совиньон, Шардоне, Ркацителли, Алиготе, Мерло, Сира, Рислинг и др.), в т.ч. автохтонных (Бастардо Магарачский, Цимлянский черный, Буковинка и др.) урожая 2015–2017 гг., отобранных в районах Краснодарского края, Крыма, Республики Дагестан и Ростовской области, а также сухие вина, изготовленные из изучаемого винограда и образцы промышленных вин и виноматериалов.

Схема исследований приведена на рисунке 1.

2.2 Отбор проб винограда, способы изготовления сусле и экспериментальных сухих вин

Отбор образцов винограда производился в стадии его технической зрелости. Вес средней пробы одного образца винограда составлял от 10 до 20 кг.

Способы переработки винограда предусматривали применение принципиальных схем, не приводящие к изменению изотопного состава углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в его целевых компонентах.

1. Получение консервированного сусле: прессование винограда с гребнеотделением → отделение мезги → стерилизация сусле при температуре $t = 100\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 10 мин → розлив в стерильную тару.

2. Получение белых сухих вин: прессование винограда с гребнеотделением → отделение мезги → сульфитация сусле (70–75 мг/л общего диоксида серы) → введение дрожжевой разводки (2 % объема) → брожение при $t = 18\text{--}20\text{ }^{\circ}\text{C}$ → снятие с дрожжевого осадка → дображивание и самоосветление → отстаивание и снятие с осадка → сульфитация (200 мг/л общего диоксида серы).

3. Получение красных сухих вин: прессование с гребнеотделением → сульфитация (70–75 мг/л общего диоксида серы) → настаивание мезги 24 часа → прессование мезги → введение дрожжевой разводки (2 % объема) → брожение сусле при $t = 18\text{--}20\text{ }^{\circ}\text{C}$ → снятие с дрожжевого осадка → дображивание и самоосветление → отстаивание и снятие с осадка → сульфитация (200 мг/л общего диоксида серы).

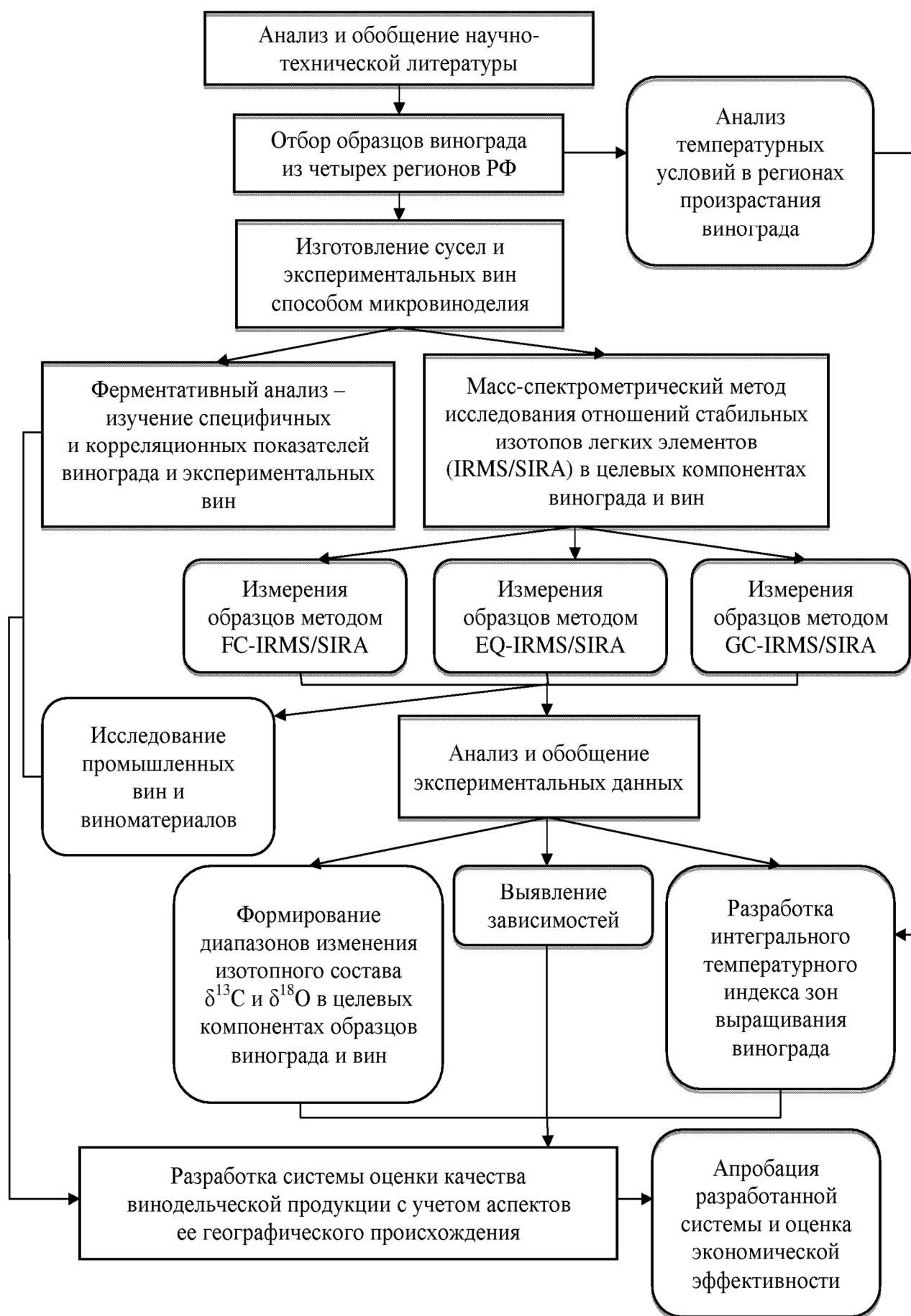


Рисунок 1 – Структурная схема исследований

2.3 Условия

В работе показана характеристика зон выращивания винограда и анализ температурных условий произрастания винограда, представленные в виде средней температуры ($t_{\text{ср}}$), средней минимальной температуры ($t_{\text{ср мин}}$) и средней максимальной температуры ($t_{\text{ср макс}}$) изучаемых регионов выращивания винограда: Краснодарский край (четыре района в 2016 г. и один район в 2017 г.), Ростовская область (два района в 2016 г.), Дагестан (четыре района в 2016 г.), Крым (четыре района в 2015 г., четыре района в 2016 г., три района в 2017 г.).

2.4 Биохимический метод исследований

С помощью ферментативного анализа были изучены основные показатели компонентного состава экспериментальных сухих вин – этанол, глицерин, остаточные сахара и глицериновый фактор.

2.5 Масс-спектрометрический метод исследования изотопного состава углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в целевых компонентах винограда и вина (FC-IRMS/SIRA)

Перед измерением изотопного состава углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в этаноле и сахарах целевых компонентов, выделенных из изучаемых образцов вина и/или сусла, проводилась подготовка проб способом, исключающим изотопное перераспределение. Изучение отношений стабильных изотопов углерода в образце проводили с использованием метода окислительно-восстановительного преобразования органической пробы в элементарные газы на аналитическом оборудовании, принципиальная схема которого представлена на рисунке 2 (Kracht, O. ^{13}C and simultaneous ^{18}O and ^2H isotope analysis in ethanol with Thermo Scientific Delta V isotope ratio mass spectrometers / O. Kracht, A. Hilker, T. Racz-Fazakas // Thermo Fisher Scientific. Application note: 30147. – Germany, 2008).

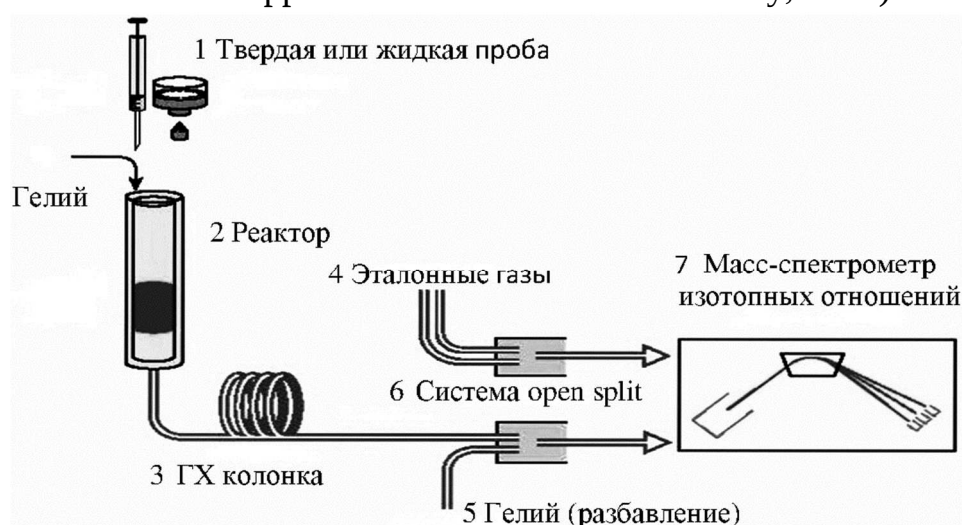


Рисунок 2 – Принципиальная схема оборудования для окислительно-восстановительного преобразования (FC-IRMS/SIRA): 1 – проба; 2 – окислительно-восстановительное преобразование; 3 – газохроматографическая колонка; 4 – процесс напуска эталонного газа; 5 – процесс разбавления гелия; 6 – капиллярная система open-split; 7 – масс-спектрометр

2.6 Масс-спектрометрический метод исследования изотопного состава кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ во внутриклеточной воде винограда и воде вина/виноматериалов (EQ-IRMS/SIRA)

Исследования изотопного состава кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ осуществляли с помощью метода изотопного уравнивания. Общая схема основных этапов исследования изотопов кислорода представлена на рисунке 3 (Thermo Fisher Scientific. Finnigan GasBench II Operating Manual. Water Equilibration ($^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ Equilibration). Revision 1118343. – 2009. – P. 5–33, 5–39, 5–42).

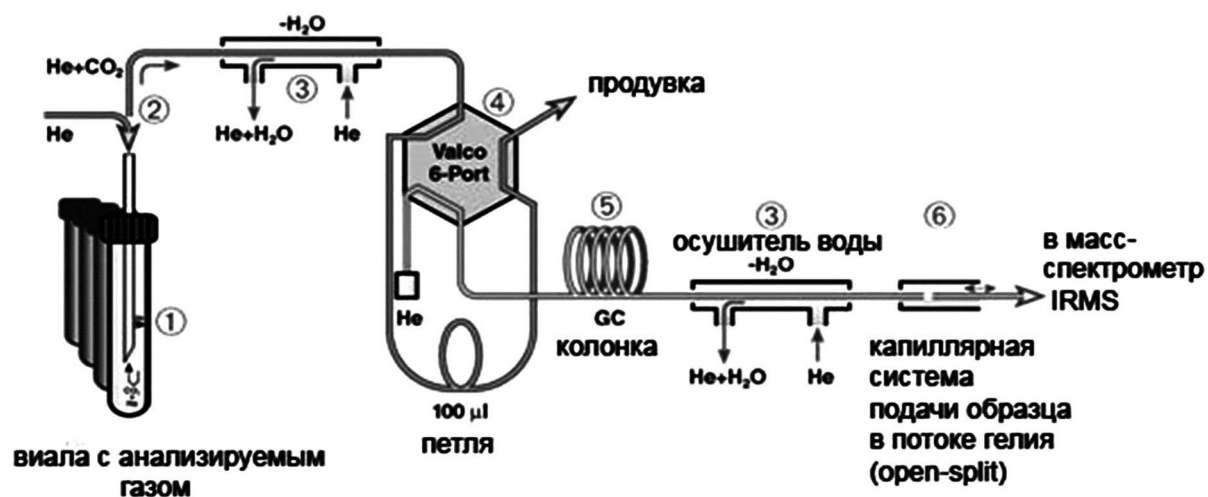


Рисунок 3 – Принципиальная схема оборудования для изотопного уравнивания (EQ-IRMS/SIRA): 1 – пробирки из боросиликатного стекла; 2 – ввод «продувочного газа»; 3 – осушение газовой фазы; 4 – управляющий вентиль; 5 – газохроматографическая колонка; 6 – подача газовой фазы в масс-спектрометр

3 РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты исследований состава стабильных изотопов углерода и кислорода в компонентах винограда Ростовской области, отобранного в 2016 г. (таблица 1).

Таблица 1 – Изотопный состав в компонентах винограда, урожай 2016 г.

№	Географический район	Состав изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в углеводах		Состав изотопов кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ во внутриклеточной воде	
		$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$, ‰	$\pm U$, ‰	$\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$, ‰	$\pm U$, ‰
1	Цимлянский	–26,48	0,10	2,74	0,01
2		–25,38	0,01	1,87	0,25
3		–27,33	0,14	–2,21	0,25
4	Мартыновский	–24,73	0,20	6,26	0,27

Результаты исследований состава стабильных изотопов углерода и кислорода в компонентах винограда Краснодарского края, отобранного в 2016–2017 гг. (таблицы 2 и 3).

Таблица 2 – Изотопный состав углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ (образцы №№ 1–9 – Каберне Совиньон, №№ 10–18 – Шардоне), урожай 2016 г.

№	Винодельческое хозяйство	Географический район	Состав изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в углеводах		Состав изотопов кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ во внутриклеточной воде	
			$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$, ‰	$\pm U$, ‰	$\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$, ‰	$\pm U$, ‰
1	«Абрау Дюрсо»	Новорос-сийск	–23,10	0,17	5,09	0,10
2	Вилла Виктория		–22,77	0,23	4,91	0,17
3	Имение Сикоры		–23,84	0,02	–0,35	0,12
4	Мысхако		–24,75	0,18	0,32	0,06
5	АФ «Южная»	Темрюк-ский	–24,60	0,10	–0,83	0,14
6	ТВК «Кубань»		–21,54	0,23	–2,11	0,18
7	АФ «Победа»		–25,99	0,15	–1,87	0,32
8	п. Виноградный	Анапский	–26,17	0,25	–1,98	0,20
9	п. Молдаванское	Крымский	–27,27	0,19	–1,20	0,06
10	с. Б. Хутора	Новорос-сийск	–23,45	0,07	2,07	0,09
11	п. Семигорье		–21,58	0,13	2,71	0,12
12	п. Семигорье		–23,59	0,11	2,96	0,25
13	п. Мысхако		–23,67	0,16	1,70	0,09
14	ст. Тамань	Темрюк-ский	–25,29	0,35	2,82	0,30
15	ст. Старотитаровская		–27,31	0,40	2,74	0,07
16	п. Виноградный		–25,24	0,37	2,28	0,12
17	п. Виноградный	Анапский	–25,83	0,20	1,55	0,03
18	п. Молдаванское	Крымский	–26,15	0,21	1,00	0,23

Таблица 3 – Изотопный состав в компонентах винограда, произрастающего в поселке «Семигорье» Краснодарского края, урожай 2017 г.

№	Сорт винограда	Состав изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в углеводах		Состав изотопов кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ во внутриклеточной воде	
		$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$, ‰	$\pm U$, ‰	$\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$, ‰	$\pm U$, ‰
1	Шардоне	–24,28	0,02	2,50	0,14
2	Совиньон Блан	–25,26	0,03	1,48	0,17
3	Рислинг	–24,71	0,26	3,86	0,06
4	Каберне	–24,91	0,07	1,16	0,13
5	Мерло	–25,92	0,03	4,09	0,14
6	Пино Нуар	–24,54	0,05	2,40	0,13
7	Каберне Фран	–23,87	0,03	1,08	0,11
8	Красностоп	–23,89	0,07	3,04	0,18

Результаты исследований состава стабильных изотопов углерода и кислорода в компонентах винограда Крыма, отобранного в 2015–2017 гг. (таблицы 4–6).

Результаты исследований состава стабильных изотопов углерода и кислорода в компонентах винограда из Республики Дагестан, отобранного в 2016 г. (таблица 7).

Таблица 4 – Изотопный состав в компонентах винограда, урожай 2015 г.

№	Район произрастания	Сорт винограда	Состав изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в углеводах		Состав изотопов кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ во внутриклеточной воде	
			$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}, \text{‰}$	$\pm U, \text{‰}$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}, \text{‰}$	$\pm U, \text{‰}$
1	Западный Южнобережный	Мускат белый	–22,83	0,05	3,23	0,01
2		Каберне	–22,24	0,09	4,21	0,01
3		Гарс Левелю	–23,58	0,19	3,04	0,01
4		Бастардо Магарачский	–24,78	0,45	3,31	0,03
5	Западный приорско-степной	Каберне	–21,85	0,52	5,19	0,04
6		Мускат белый	–24,91	0,10	4,69	0,01
7	Западный предгорно-приморский	Каберне	–22,80	0,18	2,34	0,01
8		Алиготе	–25,00	0,15	2,77	0,02
9	Восточный Южнобережный	Кефесия	–25,01	0,25	3,11	0,02
10		Эким Кара	–21,01	0,34	5,29	0,08
11		Буковинка	–23,92	0,34	3,89	0,01

Таблица 5 – Изотопный состав в компонентах винограда, урожай 2016 г.

№	Район произрастания	Сорт винограда	Состав изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в углеводах		Состав изотопов кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ во внутриклеточной воде	
			$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}, \text{‰}$	$\pm U, \text{‰}$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}, \text{‰}$	$\pm U, \text{‰}$
1	Западный предгорно-приморский	Алиготе	–23,83	0,21	3,57	0,06
2		Каберне	–23,71	0,16	2,34	0,30
3		Ркацители	–23,88	0,07	1,92	0,17
4		Каберне	–25,08	0,17	2,77	0,15
5	Западный Южнобережный	Ркацители	–23,14	0,03	1,23	0,16
6		Каберне	–26,74	0,02	0,40	0,10
7	Восточный Южнобережный	Алиготе	–24,78	0,06	2,32	0,36
8		Каберне	–20,74	0,03	4,11	0,13
9	Западный приморско-степной	Каберне	–21,91	0,08	4,45	0,03

Таблица 6 – Изотопный состав в компонентах винограда, урожай 2017 г.

№	Район произрастания	Сорт винограда	Состав изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в углеводах		Состав изотопов кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ во внутриклеточной воде	
			$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$, ‰	$\pm U$, ‰	$\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$, ‰	$\pm U$, ‰
1	Западный приморско-степной	Мерло	-23,54	0,03	1,31	0,01
2		Совиньон Зеленый	-23,33	0,10	2,17	0,02
3	Западный	Алиготе	-24,56	0,01	0,64	0,01
4	Южнобережный	Сира	-26,42	0,01	-0,12	0,01
5	Западный предгорно-приморский	Каберне	-25,40	0,20	-0,29	0,01
6		Ркацителли	-26,68	0,19	-0,27	0,01
7		Мерло	-25,18	0,08	-1,24	0,01
8		Алиготе	-25,24	0,13	0,94	0,01
9		Шардоне	-26,72	0,09	-0,21	0,01

Таблица 7 – Изотопный состав в компонентах винограда, урожай 2017 г.

№	Географический район	Состав изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в углеводах		Состав изотопов кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ во внутриклеточной воде	
		$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$, ‰	$\pm U$, ‰	$\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$, ‰	$\pm U$, ‰
1	Дербентский	-26,75	0,04	1,12	0,15
2		-26,20	0,01	-0,02	0,08
3		-25,92	0,20	0,79	0,26
4		-26,64	0,11	0,96	0,29
5	Сергокалинский	-23,17	0,04	-0,24	0,02
6	Сулейман-Стальский	-23,66	0,08	1,44	0,42
7	Магарамкентский	-26,20	0,16	0,96	0,29

3.1 Анализ полученных результатов

Анализ и обобщение совокупности полученных экспериментальных данных позволил сформировать общие диапазоны изменения изотопных значений углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ для целевых компонентов винограда и вина из четырех российских регионов (рисунки 4–11).



Рисунок 4 – Диапазоны изотопного состава кислорода в компонентах винограда и вина Краснодарского края



Рисунок 5 – Диапазоны изотопного состава углерода в компонентах винограда и вина Краснодарского края



Рисунок 6 – Диапазоны изотопного состава кислорода в компонентах винограда и вина Ростовской области

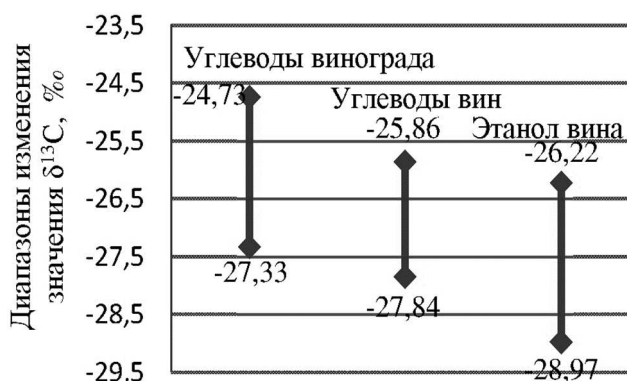


Рисунок 7 – Диапазоны изотопного состава углерода в компонентах винограда и вина Ростовской области



Рисунок 8 – Диапазоны изотопного состава кислорода в компонентах винограда и вина Дагестана



Рисунок 9 – Диапазоны изотопного состава углерода в компонентах винограда и вина Дагестана

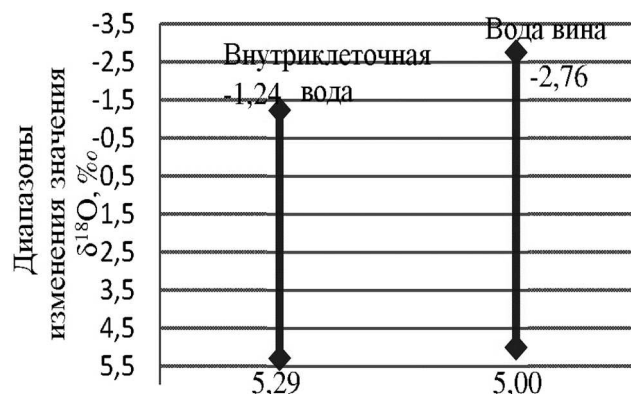


Рисунок 10 – Диапазоны изотопного состава кислорода в компонентах винограда и вина Крыма



Рисунок 11 – Диапазоны изотопного состава углерода в компонентах винограда и вина Крыма

3.2 Зависимость «Виноградные углеводы – Этанол»

Анализ совокупности экспериментальных данных позволил выявить зависимость «Виноградные углеводы – Этанол» (рисунок 12), которая характеризует влияние брожения на распределение стабильных изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ между исходными сахарами винограда и образующимся из них этанолом.

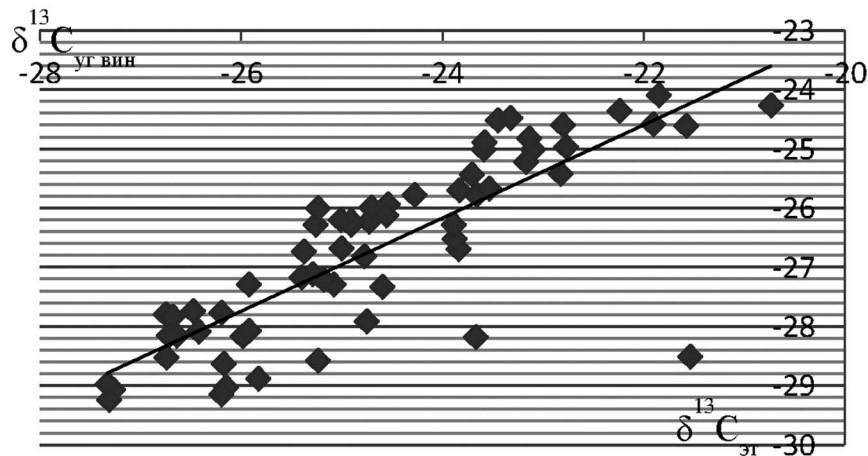


Рисунок 12 – Зависимость изотопного состава углерода углеводов винограда ($\delta^{13}\text{C}_{\text{уг вин}}$) и этанола вина ($\delta^{13}\text{C}_{\text{эт}}$)

Зависимость является линейной и описывается уравнением (1):

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{эт}} = 0,7855 \times \delta^{13}\text{C}_{\text{уг вин}} - 7,3118, \quad (1)$$

где $\delta^{13}\text{C}_{\text{эт}}$ – состав изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в этаноле вина, ‰; $\delta^{13}\text{C}_{\text{уг вин}}$ – состав изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в углеводах винограда, ‰.

3.3 Интегральный индекс зон выращивания винограда

Проведено изучение климатических особенностей зон выращивания винограда. Анализ метеорологических данных позволил выделить температуру как основной географический (климатический) фактор влияния на характер фракционирования стабильных изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в углеводах винограда.

Для оценки географического происхождения винограда и изготовленных из него сухих вин, предложен новый количественный показатель – интегральный температурный индекс «Т», расчёт которого осуществляется по уравнению (2) на основе характеристических значений температуры для каждой зоны:

$$T = t_{\text{ср}} + t_{\text{ср мин}} + t_{\text{ср макс}}, \quad (2)$$

где T – интегральный температурный индекс, °С; $t_{\text{ср}}$ – среднегодовая температура воздуха в соответствующей географической зоне выращивания винограда, °С; $t_{\text{ср мин}}$ – среднегодовая минимальная температура воздуха в соответствующей географической зоне выращивания винограда, °С; $t_{\text{ср макс}}$ – среднегодовая максимальная температура воздуха в соответствующей географической зоне выращивания винограда, °С.

Использование базы температурных значений позволило сформировать интегральные температурные индексы для изучаемых виноградарских регионов, на основе которых предложена классификация географических зон:

- Зона «Т0»: $T < 30$ *низкий* (напр., Волгоградская область)
- Зона «Т1»: $T = 32...37$ *умеренный* (Ростовская область)
- Зона «Т2»: $T = 38...44$ *повышенный* (Краснодарский край, Дагестан)
- Зона «Т3»: $T = 45...50$ *высокий* (Крым)
- Зона «Т4»: $T > 50$ *очень высокий* (напр., Сирия)

3.4 Зависимость «Виноградные углеводы – Интегральный температурный индекс»

Установленная зависимость «Виноградные углеводы – Интегральный температурный индекс», представленная в графическом формате на рисунке 13, характеризует взаимосвязь состава изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ углеводов винограда и среднего интегрального температурного индекса соответствующей географической зоны его выращивания, математически описываемая уравнением (3).

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{уг вин}} = 0,1564 \times T - 31,0497, \quad (3)$$

где $\delta^{13}\text{C}_{\text{уг вин}}$ – состав изотопов углерода в углеводах винограда, ‰; T – среднее значение интегрального температурного индекса соответствующей зоны выращивания винограда, °C.

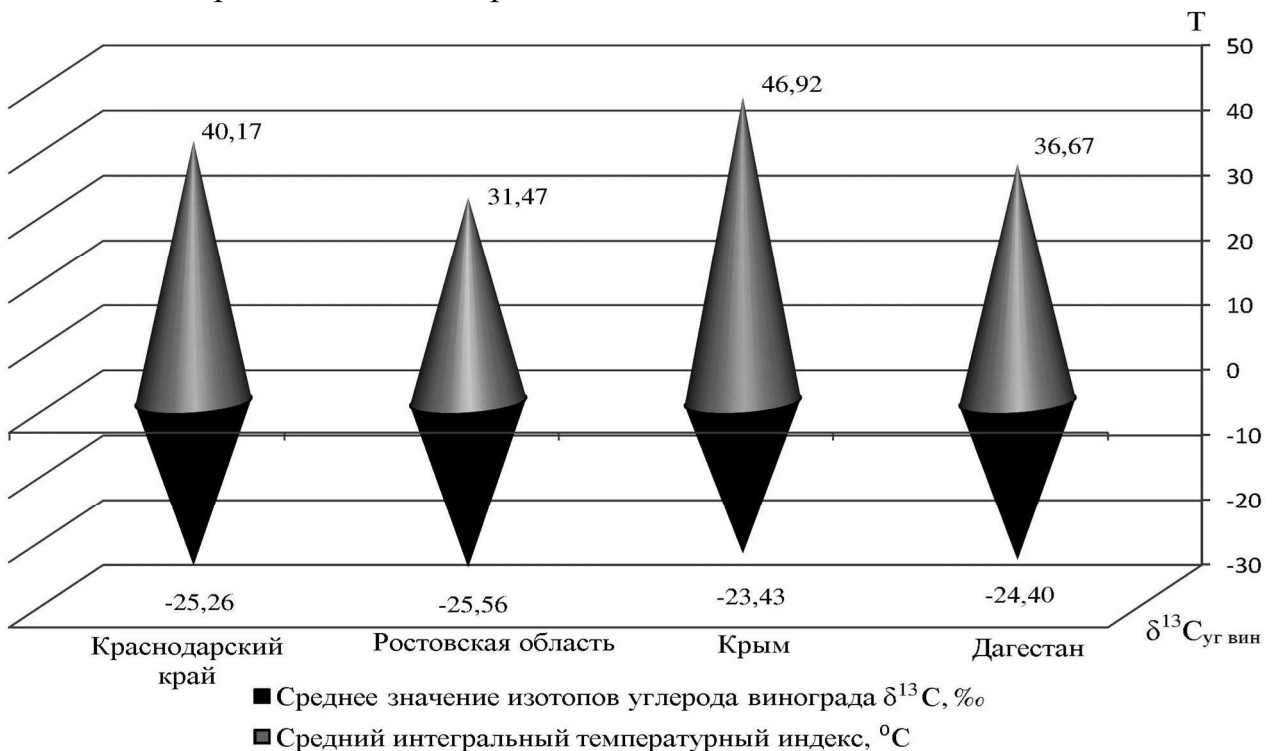


Рисунок 13 – Диаграмма зависимости изотопного состава углерода углеводов ($\delta^{13}\text{C}_{\text{уг вин}}$) винограда и интегрального температурного индекса (T) соответствующих географических зон

На основе уравнений (1) и (3) построена зависимость в виде уравнения (4) между средним интегральным температурным индексом и составом изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ этанола в сухих винах. Данная зависимость может быть рекомендована для использования в целях оценки соответствия заявленного наименования сухих вин и их географического происхождения.

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{эт}} = 0,1228 \times T - 31,7013, \quad (4)$$

где $\delta^{13}\text{C}_{\text{эт}}$ – состав изотопов углерода в этаноле вина, ‰; T – среднее значение интегрального температурного индекса соответствующей зоны выращивания винограда, °C.

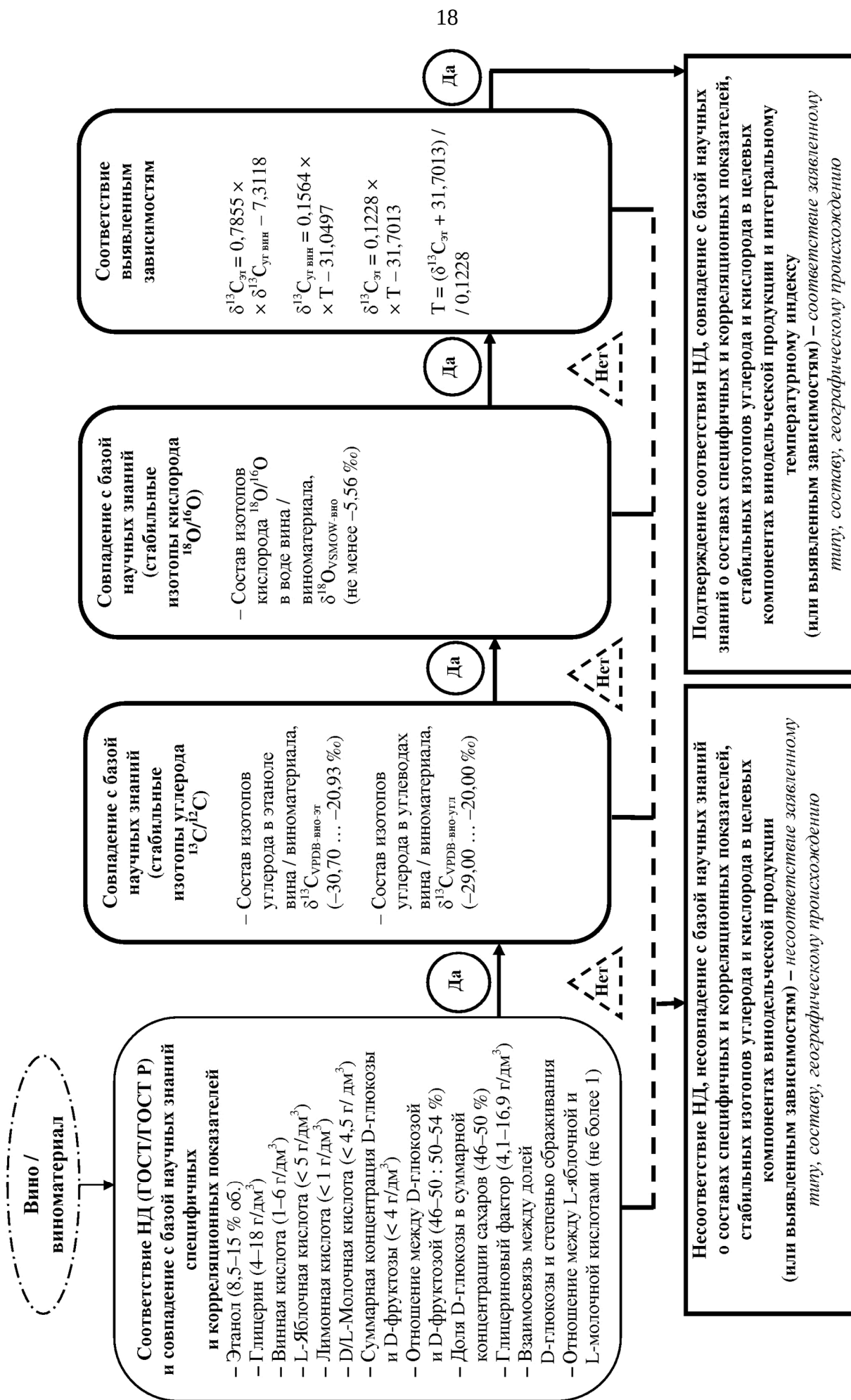


Рисунок 14 – Система (алгоритм) оценки качества винодельческой продукции с учетом аспектов ее географического происхождения

Для оценки интегрального температурного индекса может быть использована обратная зависимость, описываемая уравнением (5):

$$T = (\delta^{13}C_{\text{эт}} + 31,7013) / 0,1228, \quad (5)$$

где $\delta^{13}C_{\text{эт}}$ – состав изотопов углерода в этаноле вина, ‰; T – среднее значение интегрального температурного индекса соответствующей зоны выращивания винограда, °C.

Совокупность экспериментальных результатов, полученных на подлинных образцах винограда и винодельческой продукции с применением методов биохимического (ферментативного) анализа и масс-спектрометрии изотопных отношений, их систематизация и оценка во взаимосвязи с географическими (климатическими) условиями регионов изготовления продукции и технологическими особенностями производства, позволили разработать систему (алгоритм) оценки качества винодельческой продукции, представленную на рисунке 14, которая обеспечивает идентификацию продукции заявленному составу, типу и географическому происхождению.

3.5 Оценка экономической эффективности

Расчет экономической эффективности в результате внедрения в практическую деятельность испытательных лабораторий разработанной системы оценки качества винодельческой продукции на основе метода масс-спектрометрии стабильных изотопов легких элементов показан в таблице 8.

Таблица 8 – Расчет экономической эффективности

Показатель	До внедрения	После внедрения разработки	Абсолютное отклонение, +/-
Стоимость установки, тыс. руб.	–	600	600,0
Количество исследований, шт./мес.	800	1500	700,0
Цена исследования, руб.	4000	3500	–500,0
Себестоимость исследования, руб.	3333	2667	–666,7
Прибыль от исследований руб./исследования	– 667	– 833	0,0 166,7
тыс. руб. в год	2133,3	5000,0	2866,7
Рентабельность исследования, %	20	31,25	11,3
Окупаемость капитальных вложений, мес.	–	1,4	1,4

Разработанная система (алгоритм) оценки качества винодельческой продукции на основе метода масс-спектрометрии стабильных изотопов легких элементов внедрена в Лабораторию производственно-технологического контроля компании ООО «Городской супермаркет» (г. Москва) в целях осуществления производственного контроля качества и безопасности продукции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В рамках последовательных и систематизированных исследований, проведенных в течение нескольких сезонов, впервые получены научные знания об особенностях фракционирования стабильных изотопов легких элементов – углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в компонентах красных и белых сортов винограда (*Vitis vinifera* L.), выращиваемых в различных климатических регионах Российской Федерации и изготовленных из них сухих винах.

2. Исследованы и показаны особенности фракционирования стабильных изотопов легких элементов – углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в компонентах промышленных сухих вин и виноматериалов, произведенных в Российской Федерации, странах СНГ, ближнем и дальнем зарубежье.

3. Выявлены и описаны характеристические особенности российских зон в части климатических условий выращивания винограда в Краснодарском крае, Ростовской области, Республике Дагестан и Крыме. Впервые предложен новый показатель для оценки географического происхождения винодельческой продукции – интегральный температурный индекс.

4. На основе полученных научных данных экспериментальным путем доказана гипотеза о взаимосвязи природного фракционирования изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ с температурными условиями географического района произрастания винограда. Показана зависимость между интегральным температурным индексом и составом изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в компонентах винограда – углеводах.

5. На основе полученных экспериментальных данных и сведений о географических (климатических) условиях российских зон выращивания винограда впервые сформированы количественные интервалы сезонных изменений значений показателя $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ для углеводов винограда и вин, этилового спирта вина, а также показателя $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$ для внутриклеточной воды винограда и воды вин.

6. Разработаны методы масс-спектрометрического исследования отношений стабильных изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в компонентах винограда, вина и виноматериалов, включая подготовку проб к масс-спектрометрическому анализу, исключающие нежелательные изменения изотопного состава.

7. Разработана система (алгоритм) оценки качества вин с учетом аспектов их географического происхождения на основе масс-спектрометрии стабильных изотопов легких элементов. Результаты апробации разработанной системы позволяют рекомендовать ее применение на промышленных предприятиях, а также в организациях, осуществляющих оценку соответствия винодельческой продукции действующим нормативным требованиям Российской Федерации.

8. Полученные новые научные знания о природном фракционировании стабильных изотопов легких элементов в компонентах винограда и продуктах его переработки, а также разработанная система (алгоритм) создают основу для создания нормативных документов – национальных и/или межгосударственных стандартов ГОСТ Р/ГОСТ на методы контроля качества и идентификации винодельческой продукции.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Статьи в журналах, рекомендуемых ВАК РФ

1. Колеснов, А. Методические и экспертные вопросы оценки винодельческой продукции на присутствие сахаров и спиртов невиноградного происхождения / А. Колеснов, И. Филатова, О. Малошицкая, **М. Зенина**, И. Питрюк // Виноделие и виноградарство. – 2014. – № 6. – С. 4–11.

2. Колеснов, А. Масс-спектрометрия стабильных изотопов кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в винограде и винодельческой продукции Крыма / А. Колеснов, Н. Агафонова, **М. Зенина** // Аналитика. – 2016. – № 3 (28). – С. 72–82.

3. Аникина, Н.С. Контроль подлинности и качества винодельческой продукции. Методические аспекты исследования общих и специфичных показателей винограда Крыма / Н.С. Аникина, Н.В. Гниломедова, Н.М. Агафонова, А.Ю. Колеснов, **М.А. Зенина** [и др.] // Контроль качества продукции. – 2018. – № 2. – С. 51–58.

Статьи в изданиях, входящих в международную систему Web of Science и Scopus

4. Kolesnov, A. Scientific study of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ carbon and $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ oxygen stable isotopes biological fractionation in grapes in the Black Sea, Don Basin and the Western Caspian regions / A. Kolesnov, **M. Zenina**, S. Tsimbalaev [et al.] // Vine & Wine: Science and Economy, Culture and Education: The 40th World Congress of Vine and Wine. – Bio Web of Conferences. – 2017. – Vol. 9. – N 02020. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1051/bioconf/20170902020>

5. Kolesnov, A. Mass-spectrometric study on $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ carbon and $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ oxygen stable isotopes distributions in grapes and wines from the Black Sea regions / A. Kolesnov, **M. Zenina**, S. Tsimbalaev [et al.] // Shaping the future: Production and market challenges: The 41st World Congress of Vine and Wine. – Bio Web of Conferences. – 2019. – Vol. 12. – № 02036. – Режим доступа: <https://doi.org/10.1051/bioconf/20191202036>

6. Kolesnov, A. Mass-spectrometric study on biological and technogenic fractionation of stable isotopes of light elements in components of C3-plants grown in climatic conditions of modern natural ecosystems / A. Kolesnov, R. Abramovich, **M. Zenina** [et al.] // Green Technologies and Infrastructure to Enhance Urban Ecosystem Services. – Springer Nature Switzerland AG 2020: SMSC 2018, Springer

Geography, 2019. – P. 100–110. – Режим доступа: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-16091-3_13

Статьи в научных изданиях и сборниках материалов конгрессов, конференций и форумов

7. Kolesnov, A. Stable of light elements – a reliable criterion for evaluation of the quality and origin of foodstuffs. A case of fruit and products of their processing / A. Kolesnov, I. Filatova, O. Maloshitskaya, I. Filatova, **M. Zenina** // Genetics, biotechnology and sustainable development in safe environment: The 6th International Conference of ESES. – Egypt, 2015. – 1 p.

8. **Зенина, М.А.** Идентификация винодельческой продукции на присутствие спиртов и сахаров невинного происхождения / М.А. Зенина // Наука и современность: сбор. статей научно-практ. конф. – Уфа : Аэтерна, 2015. – Ч. 1. – С. 21–23.

9. Колеснов, А.Ю. Научные и экспертные аспекты обеспечения противодействия обороту фальсифицированной пищевой продукции растительного происхождения / А.Ю. Колеснов, И.А. Филатова, О.А. Малошицкая, **М.А. Зенина**, И.Л. Питрюк // Антиконтрафакт 2015: сбор. матер. III Междунар. форума. – Минск, 2015. – С. 52–53.

10. Колеснов, А. Аналитическая и экспертная оценка винодельческой продукции на присутствие сахаров и спиртов невинного происхождения. Ч. 1 / А. Колеснов, И. Филатова, О. Малошицкая, **М.А. Зенина**, И.Л. Питрюк // Напої. Технології та Інновації (Напитки. Технологии и Инновации). – 2015. – № 10. – С. 48–51.

11. Колеснов, А. Аналитическая и экспертная оценка винодельческой продукции на присутствие сахаров и спиртов невинного происхождения. Ч. 2 / А. Колеснов, И. Филатова, О. Малошицкая, **М.А. Зенина**, И.Л. Питрюк // Напої. Технології та Інновації (Напитки. Технологии и Инновации). – 2015. – № 11. – С. 54–57.

12. Колеснов, А.Ю. Масс-спектрометрия отношений стабильных изотопов легких элементов – основа современной параметрической системы оценки качества вин / А.Ю. Колеснов, **М.А. Зенина** // Вопросы продовольственного обеспечения в XXI веке (Товаровед 2016): матер. очно-заоч. научно-практ. конф. – М. : МГУПП, 2016. – С. 112–116.

13. Колеснов, А.Ю. Практические аспекты оценки качества винодельческой продукции для защиты от фальсификации / А.Ю. Колеснов, **М.А. Зенина**, Н.С. Аникина [и др.] // Антиконтрафакт 2016: сбор. матер. IV Междунар. форума. – Ереван : Изд. Лика, 2016. – С. 119–125.

14. Колеснов, А.Ю. Особенности биологического фракционирования стабильных изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в винограде, произрастающем в южных регионах России / А.Ю. Колеснов, **М.А. Зенина**, Т.И. Гугучкина [и др.] // Разви-

тие пищевой и перерабатывающей промышленности России: кадры и наука: матер. конф. с междунар. участ. – М. : МГУПП, 2017. – С. 100–102.

15. Колеснов, А.Ю. Особенности биологического фракционирования стабильных изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в винограде (*Vitis Vinifera* L.), произрастающем в южных климатических регионах России, и этаноле, образующемся в ходе брожения виноградных углеводов / А.Ю. Колеснов, **М.А. Зенина**, Т.И. Гугучкина [и др.] // Биотехнология: состояние и перспективы развития: сбор. матер. IX Междунар. конгресса. – М. : Изд. Рэд Групп, 2017. – Т. 2. – С. 447–449.

16. Колеснов, А.Ю. Биологическое фракционирование стабильных изотопов легких элементов в компонентах винограда Крыма и аспекты оценки качества винодельческой продукции методом IRMS/SIRA / А.Ю. Колеснов, **М.А. Зенина**, С.Р. Цимбалаев [и др.] // Актуальная биотехнология. – Воронеж : Биоактуаль, 2017. – № 2 (21). – С. 240–243.

17. Kolesnov, A. Mass-spectrometric study on composition of stable carbon isotopes in components of vines varieties grown in the climatic terroir of the South-Western Coast of the Black Sea / A. Kolesnov, **M. Zenina**, S. Tsimbalaev [et al.] // Heroic viticulture: from grape to wine through sustainability and quality: The 6th International Congress on mountain an steep slope viticulture. – Spain, 2018. – 9 p.

Зенина Маргарита Анатольевна

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Подписано в печать 20.01.2020

Печать трафаретная. Формат 60×84 ¹/₁₆.

Усл. печ. л. 1,0. Тираж 100 экз. Заказ № 2127

Отпечатано в ООО «Издательский Дом – Юг»

350010, г. Краснодар, ул. Зиповская, 9, литер «Г», оф. 41/3,

Тел. +7(918) 41-50-571

e-mail: id.yug2016@gmail.com Сайт: www.id-yug.com