

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«Московский государственный университет пищевых производств»

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

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Научный руководитель:
доктор технических наук,
кандидат биологических наук
Колеснов Александр Юрьевич

Москва - 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	6
Глава 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	15
1.1 Состояние российского рынка вина в сфере ее качества и безопасности.....	15
1.2 Проблема присутствия на рынке недоброкачественной продукции.....	17
1.3 Общие методы и задачи оценки качества (подлинности) вин.....	21
1.3.1 Органолептический метод.....	21
1.3.2 Общие физико-химические и микробиологические методы.....	22
1.3.3 Биохимические методы	24
1.4 Методы идентификации вин, основанные на фундаментальных знаниях о природе фракционирования стабильных изотопов в компонентах винограда и продуктах его переработки.....	25
1.4.1 Масс-спектрометрический метод исследования состава стабильных изотопов легких элементов (IRMS/SIRA).....	25
1.4.2 Ядерный магнитный резонанс.....	32
1.4.3 Метод масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой.....	34
1.4.4 Методы, дополняющие возможности для аутентификации вина по географическому происхождению.....	36
1.5 Теоретические основы фракционирования стабильных изотопов легких элементов (углерода и кислорода) в биологических системах.....	36
1.5.1 Физико-химические основы фотосинтеза.....	36
1.5.2 С ₃ -путь фотосинтеза (цикл Кальвина).....	40
1.5.3 С ₄ -путь фотосинтеза (цикл Хетча и Слэка).....	41

1.5.4 Фотосинтез по типу толстянковых (САМ-метаболизм).....	43
1.5.5 Фотодыхание.....	43
1.5.6 Эндогенные механизмы регуляции фотосинтеза у растений...	44
1.5.7 Природные факторы внешней среды, влияющие на процесс фотосинтеза.....	45
1.5.8 Изотопный состав кислорода атмосферы и гидросферы.....	52
Глава 2 ПРЕДМЕТ И ОБЪЕКТ ИССЛЕДОВАНИЙ, УСЛОВИЯ, МЕТОДЫ.....	56
2.1 Предмет и объект исследований.....	56
2.1.1 Исследование винограда, выращенного на территории Российской Федерации и изготовленных из него столовых вин..	58
2.1.1.1 Краснодарский край.....	60
2.1.1.2 Ростовская область.....	63
2.1.1.3 Республика Дагестан.....	64
2.1.1.4 Крым.....	65
2.1.2 Исследование промышленных сухих вин и виноматериалов, произведенных в Российской Федерации, странах СНГ, ближнем и дальнем зарубежье.....	69
2.2 Характеристика зон произрастания винограда.....	70
2.3 Интегральный индекс зон выращивания винограда.....	74
2.4 Методы и оборудование.....	76
2.4.1 Биохимические методы исследований - ферментативный анализ.....	76
2.4.2 Масс-спектрометрический метод исследования изотопного состава углерода ¹³ C/ ¹² C (FC-IRMS/SIRA).....	77
2.4.2.1 Выделение этилового спирта из вина и виноматериалов.....	78
2.4.2.2 Выделение и очистка углеводов (сахаров) винограда, вина и виноматериалов.....	79

2.4.2.3 Измерение отношений стабильных изотопов углерода в углеводах (сахарах) и этаноле.....	82
2.4.3 Масс-спектрометрический метод исследования изотопного состава кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ во внутриклеточной воде винограда, воде вина и виноматериалов (EQ-IRMS/SIRA).....	87
2.4.3.1 Принцип изотопного уравнивания.....	89
2.4.3.2 Подготовка проб	90
2.4.3.3 Измерение отношений изотопов кислорода.....	92
2.4.3.4 Расчет результатов.....	94
2.4.4 Газо-хромато-масс-спектрометрический метод исследования состава углерода в летучих органических соединениях (GC-IRMS/SIRA).....	96
Глава 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	101
3.1 Результаты исследований состава стабильных изотопов в компонентах винограда, вин и виноматериалов.....	101
3.1.1 Виноград и вино Краснодарского края.....	101
3.1.2 Виноград и вино Ростовской области.....	104
3.1.3 Виноград и вино Республики Дагестан.....	105
3.1.4 Виноград и вино Крыма.....	107
3.1.5 Вина и виноматериалы российского производства.....	110
3.1.6 Вина и виноматериалы, произведенные странами СНГ и ближнего зарубежья.....	112
3.1.7 Вина и виноматериалы зарубежного производства.....	114
3.2 Анализ полученных результатов	116
ОЦЕНКА ЭКОНОМИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ.....	124
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	126
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	128
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	130
ПРИЛОЖЕНИЕ А.....	152

ПРИЛОЖЕНИЕ Б.....	160
ПРИЛОЖЕНИЕ В.....	161
ПРИЛОЖЕНИЕ Г.....	162

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Виноградарские и винодельческие отрасли являются социально значимыми и высокорентабельными секторами агропромышленного комплекса Российской Федерации, обладающими значительным потенциалом для дальнейшего динамичного развития. Вместе с тем существует целый ряд рисков и угроз, в числе которых основные - воздействие неблагоприятных для производства винограда природных явлений, в т.ч. изменений климата, а также изготовление и выпуск в торговое обращение фальсифицированной винодельческой продукции [67, 25, 42, 76, 184].

В настоящее время обостренная конкурентная борьба на рынке приводит к увеличению доли вина, которое не в полной мере отвечает действующим законодательным нормам и требованиям, что вводит потребителей в заблуждение, увеличивая тем самым уровень финансовых потерь, угроз здоровью и жизни населения, снижая в конечном итоге уровень общественного доверия к продукции отрасли. Для эффективного предотвращения и/или минимизации недобросовестной конкуренции на разных стадиях торгового обращения и в производстве наряду с применяемыми административными мерами необходимо расширить практические возможности для объективной аналитической и экспертной идентификации винодельческой продукции, совершенствования критериев надежности систем оценки качества. Результативным способом достижения этой цели является основанная на современных научных знаниях оценка тех специфичных свойств (компонентов) продуктов виноделия, которые остаются неизменными на протяжении всей производственной цепочки переработки винограда на вино и/или манипуляция с которыми предоставляется технологически сложной и, соответственно, экономически невыгодной [51, 27, 164, 45-46, 39].

Особую актуальность научное изучение данной темы и разработка соответствующих методологий приобретает после внесения изменений и

дополнений в федеральный закон «О государственном регулировании производства и оборота этилового спирта, алкогольной и спиртосодержащей продукции и об ограничении потребления (распития) алкогольной продукции» от 22.11.1995 г. № 171-ФЗ, в т.ч. после введения в статью 2 (пп. 24 и 25) этого закона таких понятий как «Вино с защищенным географическим указанием (ВЗГУ)» и «Вино с защищенным наименованием места происхождения (ВЗМП)», а также разрешение фермерам, виноделам-«гаражистам», сельхозпроизводителям наряду с крупными предприятиями-изготовителями производить и продавать вино, полученное из собственного урожая [63].

Для решения задачи комплексного исследования специфичных свойств винодельческой продукции необходимы разработка и применение новых методологий, включающих, как аналитические методы исследования компонентного состава, которые смогли бы гарантировать достоверность и объективность полученных результатов, так и способы их интерпретации, что в конечном итоге позволит обеспечить требуемый уровень контроля за выполнением законодательных норм, а также позволит идентифицировать продукцию с выявлением, например, недостоверной информации о ее типе, наименовании и месте (регионе) происхождения. Объективность и достоверность результатов, получаемых на основе новых методологий, должны обеспечиваться максимально возможным объемом научно обоснованных и подтвержденных сведений о качественных и количественных вариациях значений анализируемых показателей, в т.ч. сведений о сортовых, географических (климатических) факторах, способных оказывать прямое влияние на специфичные свойства исследуемых продуктов [42, 90, 25-26, 44, 110, 138, 23].

Таким образом, разработка и применение системы оценки качества, в т.ч. подлинности винодельческой продукции, основанной на фундаментальных научных знаниях и современном исследовательском инструментарии, являются актуальными задачами научного и экспертного обеспечения производства, торгового обращения и импортозамещения согласно проекту федерального закона

«О виноградарстве и виноделии в Российской Федерации», внесенному в Государственную Думу – законопроект № 815115-7 [67].

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 биохимических (ферментативных) методов.

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 из изучаемого винограда 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;
- проведение анализа 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;
- проведение анализа природных температурных условий в 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 длительных исследований с учетом факторов 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), выращиваемых в ведущих винодельческих регионах Российской Федерации - Краснодарском крае, Республике Крым, Ростовской области и Республике Дагестан, а также в продуктах их переработки – сухих красных и белых столовых винах. Полученные научные данные коррелируют с результатами зарубежных исследований, демонстрирующих взаимосвязь изотопного состава углерода в высших растениях C₃-пути фотосинтеза с природными факторами, в т.ч. с температурой и связанной с ней водным балансом растений [15-16, 118-119, 184, 142, 179].

Выявлены закономерности фракционирования стабильных изотопов углерода в зависимости от географических (климатических) условий - температуры региона происхождения винограда. Предложен новый показатель – интегральный температурный индекс для использования при оценке географической происхождения винограда и вин.

Впервые показана зависимость между интегральным температурный индексом и составом изотопов углерода в компонентах винограда (*Vitis vinifera* L.) – углеводах. Полученные научные знания коррелируют с экспериментальными данными, полученными ранее в зарубежных исследованиях для других растений C₃-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.) [94, 110, 139, 173].

Построены корреляционные зависимости, основанные на экспериментальных данных состава стабильных изотопов углерода ($\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$) в углеводах и температурных характеристик 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 специфичных свойствах вин. В конечном итоге применение системы обеспечивает эффективный контроль 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 [62].

Результаты экспериментальных исследований, полученные в ходе работы, в перспективе могут представлять основу для разработки единой информационной базы научных данных Российской Федерации о специфичных 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 вина 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 своей продукции.

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 выращивания, 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, полученных из них столовых винах, 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 зарубежных исследовательских коллективов [133, 137, 162, 143-144, 167-168, 128, 133, 155, 174, 48, 183, 156].

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.:

- The 41st World Congress of Vine and Wine «Shaping the future: Production and market challenges» (г. Пунта дел Эсте, Уругвай, 2018 г.);

- The VI International Congress on mountain and steep slope viticulture «Heroic viticulture: from grape to wine through sustainability and quality» (о. Тенериф, Испания, 2018 г.);
- Научно-практический семинар в Институте винограда и вина - Institut des Sciences de la Vigne et du Vin (г. Бордо, Франция, 2017 г.);
- The 40th World Congress of Vine and Wine «Vine & Wine: Science and Economy, Culture and Education» (г. София, Болгария, 2017 г.);
- Конференция с международным участием «Развитие пищевой и перерабатывающей промышленности России: кадры и наука» (г. Москва, Россия, 2017 г.);
- IX Международный конгресс «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (г. Москва, Россия, 2017 г.);
- V Международная научно-практическая конференция «Биотехнология: наука и практика» (г. Керчь, Крым, 2017 г.);
- 1-я Международная научно-техническая конференция «Инновационный мир современного виноградарства и виноделия: Россия (InnoWine Russia-2017)» (г. Краснодар, Россия, 2017 г.);
- IV Международный форум «Антиконтрафакт-2016» (г. Ереван, Республика Армения, 2016 г.);
- Научно-практическая конференция «Вопросы продовольственного обеспечения в XXI веке (Товаровед 2016)» (г. Москва, Россия, 2016 г.);
- VI Международная конференция «International Conference of the ESES «Genetics, Biotechnology and Sustainable Development in Safe Environment» (г. Исфахан, Иран, 2015 г.).

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 г.);

- Серебряной медалью на XI Международном биотехнологическом форуме-выставке «РосБиоТех-2017» (г. Москва, 2017 г.);
- Дипломом финалиста конкурса молодых ученых IX Международного конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (г. Москва, 2017 г.).

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 иностранном языке.

Глава 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Состояние российского рынка вина в сфере ее качества и безопасности

Рынок алкогольной продукции в России - один из ведущих в экономике страны по объемам и уровню привлекательности для предпринимателей, занимающий лидирующую позицию среди других секторов пищевой промышленности. Производимая отраслью продукция обладает большим потребительским спросом и обеспечивает значительные поступления в федеральный и местный бюджеты страны [45, 67, 27, 25].

В географической структуре по производству винодельческой продукции можно выделить основные регионы: Южный федеральный округ (41 %), Северо-Кавказский федеральный округ (24 %), Северо-Западный федеральный округ (18 %) и Крым (Южный федеральный округ 10 %) и другие [53, 10]. В связи с повышением уровня культуры потребления алкогольных напитков по объему выпуска продукции ведущими предприятиями страны лидируют виноградные вина.

По данным Министерства сельского хозяйства в Российской Федерации перерабатывающие предприятия изготовили более 90,0 млн. дал вина в 2016 году и более 80,0 млн. дал вина в 2017 году. Из российского винограда в 2016 году было произведено 30,6 млн. дал виноматериалов, а в 2017 году - 34,4 млн. дал. Следует также отметить, что производство винодельческой продукции за 2013-2016 гг. увеличилось на 25 %, из чего можно сделать вывод, что обороты по производству вина увеличиваются с помощью государственной поддержки данной отрасли [53]. Согласно прогнозам, в Российской Федерации в ближайшие 5 лет потребительской спрос на российское вино будет только возрастать. За период с 2014 по 2018 годы ожидается ежегодное увеличение объемов продаж вина приблизительно на 7 % [53, 83].

Продукция винодельческой отрасли принадлежит одной из тех групп пищевых продуктов, где значительная доля поставок приходится из-за рубежа. Следует отметить, что в настоящее время около 40 % рынка занимает импортная продукция [53]. Согласно данным Федеральной службы государственной статистики (Росстат) на российский рынок преимущественно импортируются виноградные вина из Италии, Франции, Испании, Чили и других стран [83]. Российским изготовителям сложно конкурировать с иностранными, которые давно зарекомендовали себя на рынке алкогольных изделий. Данная проблема связана не только с качеством, но и с определенной осторожностью потребителей при выборе вина и определении своих предпочтений. Также достаточно серьезной проблемой для отрасли является поставка из-за рубежа виноматериалов невысокого качества. В связи с чем готовая продукция из данных виноматериалов имеет отклонения по качеству, как следствие, снижает ее конкурентоспособность на отечественном рынке. Поддерживать качество вина, розлив которого осуществляется из зарубежных виноматериалов, гораздо сложнее, чем в случае полного цикла производства на одном предприятии. Говорить о качественной и конкурентоспособной продукции можно только тогда, когда применяется система сквозного контроля, начиная с используемого винограда, технологии переработки и готового продукта – система «от лозы до готового вина» [26, 54, 51, 135, 45-46].

Тема охраны здоровья российского населения, качества и подлинности реализуемой продукции, несмотря на ее активное обсуждение на всех уровнях власти, пока не стала приоритетной для участников рынка. Значительное расширение ассортимента алкогольной продукции, включая вино, не привело к существенному повышению качества. Опубликованы многочисленные случаи продажи фальсифицированной и небезопасной продукции, нанесшей значительный вред здоровью потребителя [54, 25, 61, 63-64].

Сложившуюся на рынке алкогольной продукции ситуацию нельзя считать конкурентной, поскольку цивилизованная конкурентная среда основана участии в товарных отношениях изготовителей и потребителей, имеющих сравнительно

равные возможности для производства и приобретения продуктов. При этом каждый из изготовителей, обеспечивая в своем предложении незначительную долю общего объема, практически не в состоянии воздействовать на предложение в целом, а, следовательно, и на цену продукта. В сложившейся на российском рынке ситуации теневой оборот алкогольной продукции достигает по разным оценкам от 42 до 60 %, что позволяет ему оказывать влияние на цены со всеми вытекающими из этого экономическими последствиями [53, 83].

1.2 Проблема присутствия на рынке недоброкачественной продукции

Ассортимент винодельческой продукции поражает потребителя своим разнообразием, описанием вкусовых достоинств и прочих характеристик. При этом по описанию потребительских свойств и составу, приведенных на потребительской таре, невозможно определить фактическое качество продукта. Для анализа вино является сложным объектом для анализа, поскольку номенклатура показателей, характеризующих качество разных типов вин, представлена широким спектром соединений. Для идентификации винодельческой продукции, в т.ч. выявления красителей, ароматизаторов, спиртов и/или сахаров невиноградного происхождения и других запрещенных компонентов, требуется более углубленное исследование по значительно большему количеству физико-химических показателей, чем это обычно реализуется в рамках формализованной процедуры оценки соответствия, в т.ч. при государственном контроле (надзоре) [46, 1-2, 6].

Недобросовестные участники рынка пользуются разнообразными приемами, в т.ч. осуществляют манипуляции с компонентным составом продукта, используют более дешевое сырье и упрощенные технологии, указывают заведомо недостоверную информацию о типе и наименовании, а также о месте (регионе) происхождения, что приводит к конкурентным экономическим преимуществам, которые формируются за счет сокращения издержек производства, неуплаты

налогов и сборов. Для предотвращения или минимизации таких действий на различных стадиях производства и в торговом обращении со стороны контролирующих органов необходима внедрение мероприятий по расширению способов идентификации винодельческой продукции и совершенствованию критериев надежности формализованных систем оценки соответствия. Это представляется возможным использованием для оценки таких характеристик продукта, которые трудно или экономически не выгодно подвергать каким-либо изменениям или манипуляциям (напр., состав, год, тип и место происхождения) [42, 51, 144, 56, 61, 45].

В результате изготовители фальсифицированной продукции могут получить конкурентные преимущества перед добросовестными участниками рынка и, как следствие, у потребителя складывается неверное представление о том, каким должно быть подлинное вино, дискредитируется имидж этого напитка, снижается доверие к его качеству и пользе.

В соответствии с федеральным законом от 02.01.2000 г. № 29-ФЗ «О качестве и безопасности пищевых продуктов» в обороте могут находиться пищевые продукты, материалы и изделия, соответствующие требованиям нормативных документов. Не могут находиться в обороте, пищевые продукты, которые имеют явные признаки недоброкачества [65]. Фальсификация является основным видом угроз и рисков качеству на международном, региональных и национальных рынках пищевых продуктов и выражается, например, в недопустимом изменении состава продуктов, недостоверной информации об их происхождении, потребительских свойствах и др. Большинство современных угроз и рисков в сфере качества пищевой продукции не учитываются и не контролируются действующими формализованными системами оценки соответствия [45-46, 27, 38]. С позиций современной науки и знаний не представляется возможным подтвердить эквивалентность требований и мер формализованных систем обеспечения качества и безопасности, включая оценку соответствия и государственный контроль (надзор), реальному уровню техногенного и

антропогенного воздействия на продукцию, что частично объясняется дисбалансом между относительно высоким уровнем нормативного обеспечения качества и безопасности отдельных групп пищевой продукции и уровнем его практической реализации в действующих системах оценки соответствия. Указанный дисбаланс может быть устранён путем внедрения современных научных знаний и методологий в качестве отдельного способа исследования рынка и/или дополнительного элемента систем оценки соответствия, в т.ч. государственного контроля и надзора. В последнем случае внедрение способно существенно повысить эффективность систем оценки соответствия, в особенности в части исследования качества продукции, в т.ч. выявления контрафактных и фальсифицированных продуктов [41, 39, 79, 81]. Идентификация как неотделяемый элемент оценки соответствия продукции техническим регламентам и другим нормативным документам производится в целях установления тождественности характеристик (свойств) продукта заявленному наименованию [45, 61, 65, 9].

На данный момент развития нормативных и методических подходов идентификация алкогольной продукции включает в себя несколько этапов:

- исследование физико-химических показателей на их соответствие требованиям документов, по которым изготовлена продукция, с изучением сведений о сортовых, географических, сельскохозяйственных и технологических особенностях производства, способных оказать влияние на потребительские свойства продукта;
- анализ документов – документальная идентификация (товаросопроводительная документация, спецификации, технические описания и др.).

Проводимые в настоящее время исследования по оценке соответствия и их результаты не обладают должной эффективностью по причине того, что имеющиеся стандарты в большинстве случаев не учитывают современные научные знания, допускают большие интервалы отклонений физико-химических

показателей, содержат недостаточное количество физико-химических показателей для достоверной и объективной идентификации. Отмечается недостаток стандартизованных современных инструментальных методов анализа, гармонизированных с международными, отсутствие эталонных образцов продукции, недостаток высококвалифицированных экспертов в контролирующих органах, отсутствие надежных и научно-обоснованных критериев отнесения продукции к разряду подлинной (аутентичной), неоднозначность интерпретации аккредитованными лабораториями результатов испытаний [42, 46-47, 141]. В результате в торговле присутствует отечественная и импортная продукция, соответствующая национальным стандартам Российской Федерации, но не соответствующая своему типу и наименованию, что приводит к введению потребителей в заблуждение. Кроме того, зарегистрированы случаи необоснованного отнесения продукции, изготовленной добросовестными участниками рынка, к фальсифицированной.

Идентификация, подтверждение соответствия и происхождения продукции являются основой обеспечения гарантированного потребительского спроса, а также защиты интересов и репутации добросовестных изготовителей. Возросшие требования к качеству и безопасности винодельческой продукции определяют необходимость регулярного совершенствования нормативной правовой базы [47, 79, 6, 58, 78]. Для этого требуются научные и экспертные ресурсы, применение прецизионного аналитического инструментария и современных методических подходов. Все это должно не только обеспечивать подтверждение соответствия продукции определенным нормативным требованиям, но и подтверждать ее географическую принадлежность [42, 36-37, 141, 90, 8]. Риск присутствия фальсифицированных продуктов определяет необходимость и актуальность применения современных научных методологий исследования, которые позволяют вести контроль за исполнением законодательных норм и условий добросовестной конкуренции участниками рынка винодельческой продукции [46, 27, 43, 29, 58].

1.3 Общие методы и задачи оценки качества (подлинности) вин

В последние годы в связи с ростом объемов производства как соответствующих нормам, так и фальсифицированных пищевых продуктов тенденция развития исследований в этой области направлена на выявление корреляционных зависимостей между составом продуктов и их качеством. Оценка качества вина в зависимости от предъявляемых к нему требований проводится с помощью различных методов. Наиболее распространены органолептический, физико-химический, биохимический и микробиологический методы [67, 61, 65].

1.3.1 Органолептический метод

Органолептический (сенсорный) метод основан на оценке вина с помощью органов чувств человека. Этот метод остается в настоящее время наиболее распространенным и в то же время наиболее простым и быстрым. Во многих случаях это единственно возможный метод, позволяющий за короткий промежуток времени дать оценку высококачественному продукту и отличить его от ординарного. Данный метод является дополнительным к перечню показателей, проверяемых при оценке качества и подлинности винодельческой продукции [87, 1].

Химический состав вин очень разнообразен и зависит от экологических условий произрастания винограда, сорта, технической зрелости ягод, технологии первичного и вторичного виноделия. Многообразие цветовых, вкусовых и ароматических достоинств вин возникает из многокомпонентного состава виноградного сусла благодаря жизнедеятельности дрожжей и технологии изготовления [88, 14]. Метод органолептического анализа включает в себя определение внешнего вида (прозрачность, наличие осадка), цвета, аромата (букета), вкуса посредством органов чувств. Метод требует специальной

подготовки аналитика (дегустатора), а также строгого соблюдения установленных правил проведения анализа (дегустации) [14].

1.3.2 Общие физико-химические и микробиологические методы

Технохимические и микробиологические методы играют исключительно важную роль в виноделии. Задача этих методов особенно важна в новых условиях рыночных отношений, в связи с переходом на которые резко возросло количество различных видов фальсификации вин.

Федеральным законом от 02.01.2000 N 29-ФЗ «О качестве и безопасности пищевых продуктов» (статья 22) и Техническим регламентом Таможенного Союза «О безопасности пищевой продукции» (ТР ТС 021/2011) установлены обязательные требования к организации и проведению юридическими лицами производственного контроля за качеством и безопасностью алкогольной продукции, в том числе посредством проведения лабораторных исследований [65, 61].

Физико-химическими методами исследуют состав сырья, полуфабрикатов, готовой продукции, технологических средств и устанавливают их соответствие требованиям нормативных документов [1-2, 7, 51]. К основным физико-химическим показателям, подлежащим контролю, относятся объемная доля этилового спирта (крепость), массовая концентрация сахаров, титруемых и летучих кислот, фенольные, красящие, азотистые, экстрактивные вещества, приведенный экстракт, массовая концентрация диоксида серы и органических кислот, относительная плотность. Перечисленные показатели регламентируются нормативными документами, такими как ГОСТ Р/ГОСТ и др. [17, 56, 26, 52].

Для характеристики состояния многокомпонентной системы вина также предложен современный подход по исследованию интегральных показателей буферной емкости, электропроводности и др. Значения буферной емкости винограда зависят от индивидуального соотношения компонентов катионно-

анионного состава (калия, кальция, магния, натрия и других элементов), на который влияют природно-климатическая зона выращивания, массовая концентрация органических кислот. Определение такого комплексного показателя, характеризующего физико-химические свойства вина, как буферная емкость, является эффективным действием при подозрении на возможное разбавление продукта или корректировку вкуса. Это связано с тем, что при нарушении баланса компонентов виноградного сусла и вина при внесении в систему воды приводит к снижению показателя буферной емкости и повышению значения электропроводности. Таким образом, содержание катионов и анионов возможно использовать для характеристики вина, что дает возможности для выявления недоброкачественной продукции [2, 7, 28, 4, 52].

Компоненты вин, обеспечивающие их буферность, обуславливают также способность к перемещению электронов под воздействием электрических полей (показатель удельной электропроводность). Электропроводность винограда зависит от его сорта, степени зрелости, региона возделывания культуры и почвенно-климатических условий. Оно также связана с содержанием органических кислот, в т.ч. с отдельными кислотами, суммой катионов и анионов, а также с массовыми концентрациями отдельных катионов, что может быть использовано для выявления разбавления вина водой [2, 52, 3].

Следует отметить важность микробиологических методов в схеме производственного контроля виноградных вин. При отсутствии должного микробиологического контроля в вине могут развиваться нежелательные процессы, приводящие к порче или даже к гибели продукта. К микробиологическим показателям относятся количество микроорганизмов и их видовой состав, включая физиологическое состояние [65, 26, 71]. Несоответствие результатов анализа и нормативов является основанием для отказа в подтверждении соответствия продукции. Исходя из сведений о химическом составе продукта и состояния микроорганизмов, можно дать характеристику процессов,

происходящих в вине, определить возможные изменения и, соответственно, меры для их предотвращения [26, 54, 56, 13].

1.3.3 Биохимические методы

Под биохимическим методом исследования в большинстве случаев понимают ферментативный анализ, в котором ферменты используются в качестве реагентов. Ферменты как биологические катализаторы способны в определенных условиях преобразовывать с высокой специфичностью отдельные вещества (субстраты) в продукты реакции. Субстраты, с которыми взаимодействуют ферменты, относятся к соединениям природного происхождения, участвующим в процессах метаболизма живой клетки, например, органические кислоты, сахара, спирты и др. Таким образом, методическую основу ферментативного анализа составляют природные биохимические механизмы обмена вещества, отдельные реакции которого воспроизводятся с большой точностью в искусственных условиях с целью количественного определения субстратов в монопродуктах или продуктах со сложным составом. Для проявления селективных свойств ферментов и получения достоверного результата условия воспроизведения реакции максимально приближены к физиологическим условиям, существующим в живой клетке. В ходе ферментативной реакции должно быть достигнуто полное количественное преобразование исследуемого субстрата. Специфичность действия ферментов обеспечивает достоверность результата ферментативной реакции, так как она практически не зависит от влияния соединений, которые имеют схожее с анализируемым компонентом строение и входят вместе в состав исследуемого объекта [35].

Количественное определение соединений с помощью ферментов используется в винодельческой промышленности в системах производственного контроля, при контроле качества готовой продукции и сырья, анализе состава с целью исследования свойств и их соответствия нормативной документации,

оценке гигиенического статуса, мониторинга качества, выявления фальсификации [35, 42]. В настоящее время с помощью ферментативного анализа в винах возможно количественное определение этанола, глицерина, винной и лимонной кислоты, L-аскорбиновой кислоты, уксусного альдегида, L-глутаминовой кислоты, сахарозы, D-глюкозы, D-фруктозы, D-глюконовой кислоты, D- и L-яблочных кислот, D- и L-молочных кислот, муравьиной кислоты, D-сорбита и ксилита, общего диоксида серы, уксусной кислоты, щавелевой и янтарной кислоты.

1.4 Методы идентификации вин, основанные на фундаментальных знаниях о природе фракционирования стабильных изотопов в компонентах винограда и продуктах его переработки

1.4.1 Масс-спектрометрический метод исследования состава стабильных изотопов легких элементов (IRMS/SIRA)

Принцип масс-спектрометрии отношений стабильных изотопов легких элементов в потоке гелия, получивший международное название Isotope Ratio Mass Spectrometry (IRMS) или Stable Isotope Ratio Analysis (SIRA), лежит в основе методов и инструментальных разработок, которые позволили решить целый ряд фундаментальных и прикладных задач в исследовании объектов растительного происхождения, включая, например, задачи по оценке качества винодельческой продукции [147, 142, 152, 154, 187, 189, 149, 129, 117, 104].

Распределение стабильных изотопов в компонентах вина, например, в углеводах, воде и этаноле происходит под влиянием эндогенных и экзогенных процессов. При этом результаты этих процессов характеризуют, в том числе год урожая и/или географическое происхождение винограда и вина [42, 172, 38-39, 134, 105, 29, 57, 79, 130]. Достоверный вывод о качестве и свойствах исследуемых продуктов, в основе которых лежат количественные данные, например, о составе

стабильных изотопов углерода в сахарах и этаноле, обеспечивается применением максимального объема научно обоснованных данных.

Одной из первых научных работ, посвященной изучению изотопного состава компонентов винограда, стал труд ученых из Института геохимии Римского университета (Италия). Работа посвящена изучению состава изотопов углерода в листьях, ягодах и соке винограда сорта San Giovese (год урожая 1975). Они установили, что диапазон измерения показателя $\delta^{13}\text{C}$ в тканях листьев этого растения составил от минус 26,3 до минус 24,6 ‰.

В 2002 г. широкую известность также получила работа авторского коллектива из трех научных организаций Франции – Национального института сельскохозяйственных исследований, Национальной школы сельскохозяйственных наук Бордо и отдела по изучению фруктов и винограда Национального института сельскохозяйственных исследований. Исследования были посвящены изучению состава изотопов углерода в сахарах зрелых ягод тридцати одного сорта винограда в зависимости от их сортовых особенностей, климатических и почвенных условий выращивания лозы. По результатам исследований был сформирован общий диапазон изменений показателя $\delta^{13}\text{C}$ для сахаров винограда от минус 26,0 до минус 20,0 ‰.

В 2010 г. результаты французского коллектива были подтверждены испанскими учеными из Института винограда и вина региона Кастилия Ла-Манча, который провел исследования восьми сортов винограда, выращенных на орошаемых и неорошаемых территориях в 2007-2008 гг. Целью исследований являлся изучение изотопного состава углерода в сахарах винограда в зависимости от его сорта. Было выявлено, что средние значения $\delta^{13}\text{C}$ углеводов винограда в зависимости от сорта, выращенного в условиях «водного стресса» находятся в интервале от минус 21,6 до минус 20,1 ‰. Орошение территории виноградника приводило к изменению уровня $\delta^{13}\text{C}$ в углеводах винограда от минус 22,9 до минус 22,1 ‰.

Работа коллектива японских ученых, результаты которой были опубликованы в 2005 году, интересна тем, что в ней на основе метода IRMS/SIRA исследовался состав изотопов углерода, водорода и кислорода в этаноле, полученным промышленным способом из различных растительных источников. Авторы исследования отмечали, что значения показателя $\delta^{13}\text{C}$ для углеводов винограда колеблются в интервале от минус 28,0 до минус 23,0 ‰.

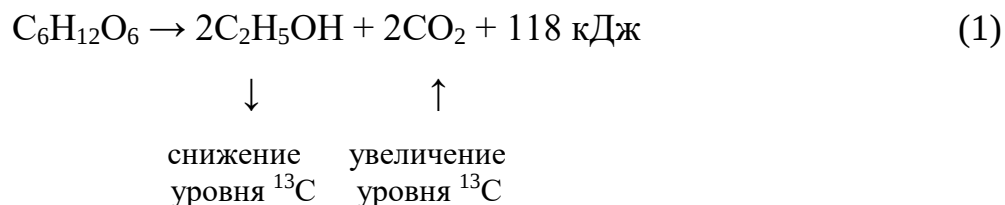
В 1997 г. немецкими учеными из Технического университета и Ведомства по контролю в сфере охраны здоровья (Германия) были опубликованы результаты по изучению изотопного состава углерода в этаноле, выделенном из различных алкогольных напитков (напр. вина, бренди, виски и др.). Были установлены интервалы показателя $\delta^{13}\text{C}$ для этанола из виноградного вина (от минус 30,0 до минус 24,0 ‰), тростникового сахара и кукурузы (от минус 13,0 до минус 11,0 ‰), свекловичного сахара (от минус 28,0 до минус 26,0 ‰), фруктов (от минус 27,0 до минус 25,0 ‰).

Существенное дополнение базы научных знаний о составе стабильных изотопов углерода в углеводах винограда и полученном из них этаноле представляет «Свод правил для оценки качества фруктовых и овощных соков и нектаров» (Code of Practice AIJN). Согласно своду правил, интервал изменения показателя $\delta^{13}\text{C}$ для виноградных углеводов составляет от минус 28,0 до минус 23,0 ‰, а этанол, полученный в ходе сбраживания винограда, имеет значения, лежащие в диапазоне от минус 29,0 до минус 24,0 ‰.

Следует отметить проведенную исследовательскую работу специалистами из Института защиты здоровья и потребителей Объединенного исследовательского центра Еврокомиссии (Италия) в период с 1995 до 1997 гг. Результаты их исследований по изотопному составу углерода в этаноле вин за три года были представлены в статье, в которой были представлен диапазон изменения значений показателя $\delta^{13}\text{C}$ для вин от минус 29,6 до минус 23,2 ‰.

Научные знания, полученные различными научными коллективами с использованием масс-спектрометрического метода, позволяют сформировать

интервалы изменения количественных значений показателя $\delta^{13}\text{C}$ изотопов углерода от минус 28,00 до минус 20,00 ‰ (для сахаров виноградного происхождения) и от минус 30,70 до минус 20,93 ‰ (для этанола виноградного происхождения). При формировании указанных интервалов учитывались опубликованные сведения о факторах географического, климатического и сортового характера, которые способны оказывать влияние на количественный уровень показателя $\delta^{13}\text{C}$ сахаров в ходе достижения ягодами зрелости и готовности к промышленной переработке. Как следует из представленных интервалов и обосновывающих их научных данных, количественные значения показателя $\delta^{13}\text{C}$ для сахаров всегда выше уровня данного показателя в этаноле, полученном из данных сахаров [39, 27, 111, 44, 42, 183, 113, 122]. Подобное различие между сахарами и этиловым спиртом обосновывается особенностями распределения стабильных изотопов углерода между продуктами, возникающими в ходе брожения углеводов, среди которых диоксид углерода характеризуется повышенным содержанием изотопа углерода ^{13}C , в то время как в этаноле отмечается дефицит данного изотопа согласно уравнению (1):



С учетом фундаментальных научных знаний о природе брожения и изотопного распределения углерода между продуктами этого процесса опровергается тезис о якобы количественной эквивалентности значений показателя $\delta^{13}\text{C}$ сахара и полученного из него этилового спирта. Следует также отметить, что современная база научных знаний об изотопных характеристиках компонентов винограда и вина периодически обновляется, что в свою очередь обосновывает необходимость актуализации известных количественных уровней для показателя $\delta^{13}\text{C}$ [46, 42, 36, 44].

Целевой величиной, представляющей результат реализации аналитической части изотопного исследования, является показатель дельта (δ), количественное значение которого в соответствии с международными требованиями рассчитывается по уравнению (2):

$$\delta {}^nI = \frac{(R_s - R_r)}{R_r} \times 1000, \quad (2)$$

где nI – обозначение более «тяжелого» изотопа исследуемого элемента (напр., углерода ${}^{13}\text{C}$ или кислорода ${}^{18}\text{O}$), ‰;

R_s и R_r – отношения изотопов, рассчитанные на основе результатов измерения изотопомеров элементарных газов, например, CO_2 , CO , SO_2 и др., получаемых из пробы (s) и стандартного образца сравнения (r), ‰.

В Европейском Союзе (ЕС) уже более 27 лет (с 1991 года) используют банк данных вин, который представляет собой ежегодно пополняемую базу научных знаний, содержащую сведения, в том числе о диапазонах изменения природных уровней стабильных изотопов легких элементов в специфических компонентах вин из разных регионов мира. Научную поддержку данного проекта осуществляет Объединенный исследовательский центр в г. Испра (Италия). Основой для создания и поддержания банка данных является ряд методов, разработанных и принятых Международной межправительственной организацией по виноградарству и виноделию (МОВВ). В таблице 1 представлены действующие в настоящее время методы МОВВ для масс-спектрометрического исследования отношений стабильных изотопов легких элементов IRMS/SIRA, которые стали основой для его применения, с целью поддержания банка данных вин и контроля винодельческой продукции на рынке ЕС [47, 106-109, 168-169].

Методы исследования состава стабильных изотопов легких элементов занимают центральные позиции в современном арсенале практической аналитики при идентификации пищевой продукции, в т.ч. вин и других продуктов переработки винограда и выявления фальсификации [44, 176, 165, 92, 124, 117, 46, 58, 29, 123, 96, 146, 68]. Фундаментальные знания о природе биологического

фракционирования, например, изотопов углерода и кислорода, а также сведения о влиянии на их метаболизм географических и техногенных факторов позволяют дать ответы на целый ряд вопросов прикладного характера. Например, базы данных о натуральных эталонных винах, содержащих информацию об климатических признаках, представляют собой основу для прослеживаемости партий продукции в части региона (места) происхождения вина, выявления недопустимых манипуляций с составом продукта: от простейшего разбавления водой до более сложных способов фальсификации – добавление сахаров и/или спиртов невиноградного происхождения [42, 44, 38-39, 142, 97, 137, 91, 105, 131, 59, 188].

Таблица 1 - Масс-спектрометрические методы, формирующие современную методическую базу для контроля качества винодельческой продукции в части исследования изотопного состава для установления соответствия продуктов заявленному наименованию и оценки прослеживаемости

Год разработки или обновления	Источник публикации и обозначение метода	Продукция	Целевой компонент продукта	Обозначение изотопов в исследуемом компоненте
1997	Регламент ЕС 822/97, приложение	Вино	Вода	$^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$
2001	Метод OIV MA-AS-312-06	Вино, виноградное сусло, концентрированное виноградное сусло, виноградный сахар	Этанол, в т.ч. после сбраживания сахаров	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$
2003	Регламент ЕС 440/2003, приложение № 2	Вино	Этанол	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$
2005	Метод OIV MA-AS-314-03	Игристые вина	Диоксид углерода	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$
2009	Метод OIV MA-AS-2-12	Вино, виноградное сусло	Вода	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$
2009	Метод OIV MA-BS-22	Алкобольные напитки	Этанол	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$
2010	Метод OIV MA-AS-312-07	Вино	Глицерин	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$

Однако методология так называемого одноэлементного исследования (ОЭИ) на примере углерода обладает также существенным недостатком, таким как подтверждение присутствия в винодельческой продукции, которая была произведена недопустимым способом, только тех компонентов невиноградного происхождения, в том числе спиртов и/или сахаров, которые получены или из растений C_4 -пути фотосинтеза или спирта, изготовленного путем химического синтеза из этилена и воды. Так, например, в первом случае при присутствии в продукции сахаров и/или спирта значения показателя $\delta^{13}C$ будут превышать указанную выше (минус 20,93 ‰) максимальную границу, а во втором – принимать значения менее нижней границы (минус 30,70 ‰). Исследование только состава стабильных изотопов углерода по методологии ОЭИ в винодельческой продукции, изготовленной недопустимым способом, не позволит выявить в ней спирт других растений C_3 -пути фотосинтеза, например, из сахарной свеклы, пшеницы, картофеля и др., в виду полного совпадения значений показателя $\delta^{13}C$ с интервалом изменения количественного уровня, характерного для данной величины в винограде, который также является представителем группы растений C_3 -пути фотосинтеза. Кроме того, данная методология не позволит выявить более сложную фальсификацию, которая реализуется применением недобросовестными изготовителями таких смесей, в которых смешиваются в определенном соотношении сахара из сахарной свеклы и сахарного тростника или из других продуктов растений C_4 -пути фотосинтеза [27, 46, 41, 79, 142].

В этой связи использование только методологии ОЭИ (на примере изотопов углерода) для решения прикладной задачи выявления фальсификаций винодельческой продукции не является полностью обоснованной в виду наличия ограничений в доказательном уровне получаемых результатов. Улучшение доказательного уровня возможно через дополнения масс-спектрометрического анализа показателя $\delta^{13}C$ в этиловом спирте определением этого параметра в препарате углеводов, выделенных из того же самого образца

(многокомпонентный анализ), а также через исследование изотопного состава другого элемента (напр., кислорода) в основных компонентах продукта (напр., воде) и проведение дополнительно неизотопного анализа биохимического состава продукции (напр., глицерина, D-глюкозы, D-фруктозы и др. показателей) с последующим построением на основе полученных результатов корреляционных зависимостей между исследованными параметрами [42, 46].

Таким образом, для проведения достоверной и объективной идентификации винодельческой продукции целесообразно использовать многокомпонентный вариант методологии масс-спектрометрии отношений стабильных изотопов легких элементов, степень научно-теоретической и инструментальной проработанности которой и многолетняя практическая апробация в различных странах определяют ее лидирующие позиции среди современных аналитических инструментариев, применяемых в фундаментальных и прикладных научных исследованиях, подтверждения соответствия и экспертизе пищевой продукции [42, 144, 79, 99, 186, 103, 114, 116, 135, 99, 180, 60].

1.4.2 Ядерный магнитный резонанс

Ядерный магнитный резонанс (ЯМР) в рамках методологии SNIF-NMR (международное название Specific Natural Isotope Fractionation Nuclear Magnetic Resonance), впервые предложенной по Франции профессором Мартеном (г. Нант) в начале 90-х годов XX века, применяют для изучения природы спирта путем определения содержания стабильного изотопа водорода – дейтерия (^2H) в структурных группах молекул этилового спирта – метильной $\text{CH}_2\text{DCH}_2\text{OH}$ (D/H)_I и метиленовой группах CH_3CHDOH (D/H)_{II}, выделенного из образца вина для установления природы этанола [21, 33, 126, 109].

В странах ЕС используется метод SNIF-NMR, который не только дополняет современную методическую базу для контроля качества винодельческой продукции для установления соответствия продуктов заявленному наименованию

и/или места (региона) происхождения, но и является арбитражным в вопросе определения природы спирта (таблица 2). Данный метод применяется также для решения прикладных задач по определению географического происхождения веществ [109, 47, 125, 137, 151, 127, 158]. Модифицированный метод CS-qNMR (Cumulative Screening-quantitative Nuclear Magnetic Resonance) разработан и используется Российским университетом дружбы народов (РУДН).

Таблица 2 - Методы SNIF-NMR с международным статусом

Год разработки (обновления)	Источник публикации и обозначение метода	Продукция	Целевой компонент	Изотопы в изучаемом компоненте
2009	Официальный сборник методов анализа OIV (метод MA-BS-23)	Алкогольные напитки	Этанол	(D/H) _I , (D/H) _{II}
2011	Официальный сборник методов анализа OIV (метод MA-AS-311-05)	Вино	Этанол	(D/H) _I , (D/H) _{II}

Согласно имеющейся базе научных данных и с учетом климатических (географических) и технологических факторов минимальный и максимальный уровни для показателя (D/H)_I в виноградном этаноле составляют 97,0 и 106,0 млн⁻¹ соответственно, а для показателя (D/H)_{II} – 121,0 и 136,0 млн⁻¹. В эти диапазоны попадают также этанолы, полученные из некоторых других фруктов (напр., яблок, груш), но не из сахарной свеклы или растений C₄-пути фотосинтеза. Метод SNIF-NMR требует использования спектрометров ЯМР с рабочей частотой не менее 400 МГц для ядер ¹H [109, 33, 160].

Следует отметить, что для регистрации количественных спектров ЯМР с высокой точностью этанол и его водные растворы не требуют предварительной подготовки проб. Отдельным недостатком метода ЯМР является длительность измерений и высокая стоимость оборудования, а также высокие затраты на его текущее обслуживание. Метод ЯМР может идентифицировать компоненты и происхождение вина с высокой степенью точности и достоверности [33, 126, 175, 132].

Так, например, для решения прикладной задачи по выявлению спиртов и/или сахаров невиноградного происхождения (всех типов как из C_3 -, так и C_4 -растений, а также синтетического спирта) возможно применение т.н. мультиэлементного исследования (МЭИ) состава стабильных изотопов трех элементов: углерода ($^{13}C/^{12}C$), кислорода ($^{18}O/^{16}O$) и/или водорода ($^2H/^1H$). При этом исследования целесообразно проводить в различных целевых компонентах винодельческой продукции, выделенных из одного образца, например, $\delta^{13}C/^{12}C$ исследуют в этиловом спирте и препарате углеводов, а $\delta^{18}O/^{16}O$ – в воде того же образца продукции.

С помощью методов ЯМР и IRMS/SIRA можно решать следующие прикладные задачи, ориентированные на контроль качества алкогольных напитков [163, 159, 137, 33, 100, 93, 102-103, 161, 68]:

- количественная оценка в алкогольных напитках природы этанола;
- выявление фальсификации вин, осуществленных путем «шапталлизации», разбавления водой или добавлением этилового спирта;
- выявление манипуляций в производстве;
- исследование природы воды, участвовавшей в процессе брожения углеводов.

1.4.3 Метод масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой

Масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (ICP-MS) - это разновидность аналитической методологии с масс-спектрометрическим детектированием, применяемой в исследовании металлов. Метод отличается уникально высокой чувствительностью и способностью определять ряд металлов и нескольких неметаллов в концентрациях до 10^{-10} %. Метод основан на использовании индуктивно-связанной плазмы в качестве источника ионов и масс-спектрометра для их разделения и детектирования. В последнее время метод

масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой становится все более актуальным для исследования состава стабильных изотопов тяжелых металлов.

Метод изотопной масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой, позволяя при определенном приборном оснащении и хорошо отработанных методических приемах, выполнять достоверный и воспроизводимый изотопный анализ. Для этого метода используют приборы различного типа – квадрупольные (quadrupole-ICP-Q-MS), времяпролетные (time-of-flight – ICP-TOF-MS), магнитосекторные (sector field – ICP-SF-MS), а также приборы высокого разрешения (High resolution – ICP-HR-MS) с двойной фокусировкой в секторных магнитных и электрических полях с одноколлекторной и многоколлекторной системой регистрации ионных токов [140].

Метод ICP-MS имеет ряд основных достоинств таких как:

- возможность быстрого прямого ввода пробы при атмосферном давлении, что увеличивает производительность операций при смене образцов;
- возможность определения изотопов практически всех тяжелых элементов, так как индуктивно связанная плазма позволяет с высокой эффективностью ионизировать любой элемент периодической таблицы Менделеева;
- возможность анализа значительно меньших количеств образца (до уровня концентраций нг/мл);
- достаточно малая степень изменения эффекта фракционирования по массе во времени при поступлении пробы в масс-анализатор;
- невысокие трудозатраты для проведения калибровки изотопных отношений;
- возможность достаточно простого варьирования составом и концентрациями элементов или изотопов в пробах и стандартных образцах.

1.4.4 Методы, дополняющие возможности для аутентификации вина по географическому происхождению

Для идентификации винодельческой продукции по географическому происхождению могут использоваться дополнительные исследования компонентного состава такие как [52, 58, 73, 2, 90, 190, 7, 172, 164, 166, 5, 170, 97, 153]:

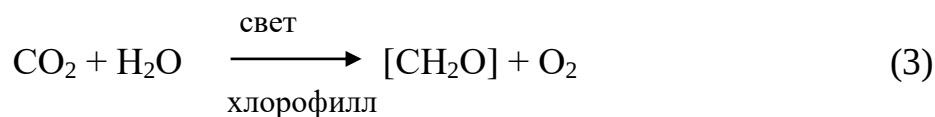
- анализ летучих компонентов вина;
- определение аминокислотного состава вина — в основном пять аминокислот: аргинин, аланин, тирозин, валин и лецитин;
- профиль микроэлементов Na, Ca, Fe, Cu, Zn и др.;
- определение редких элементов — лантанидов;
- профиль тяжелых металлов — литий, рубидий, стронций и др.;
- органические кислоты.

1.5 Теоретические основы фракционирования стабильных изотопов легких элементов (углерода и кислорода) в биологических системах

1.5.1 Физико-химические основы фотосинтеза

Фотосинтез является важнейшим процессом биосферы, который стабилизирует содержание диоксида углерода (CO_2) в атмосфере. Необходимые условия жизнедеятельности на планете обеспечиваются присутствием диоксидом углерода в атмосфере, а также поглощением водой инфракрасных лучей для сохранения значительного количества теплоты на планете.

Процесс фотосинтеза выражается через суммарное уравнение (3):



На свету в растениях из окисленных веществ (диоксида углерода и воды) образуются органические соединения и высвобождается кислород, таким образом, фотосинтез – процесс трансформации поглощенной энергии света в химическую энергию органической веществ. Данное уравнение фотосинтеза явилось плодом работы нескольких поколений ученых из разных стран [15, 82, 24, 50, 82, 118].

Растения, в которых протекает процесс фотосинтеза, в соответствии с биохимическими механизмами ассимиляции углерода, можно разделить на две большие группы. Ассимиляцию углерода можно исследовать измерением состава изотопов этого элемента в компонентах растений, например, в углеводах. Большинство наземных растений показывают значения $\delta^{13}\text{C}$, варьирующие в пределах от минус 20 до минус 31 ‰, тогда как значения $\delta^{13}\text{C}$ водных растений, растений пустынь, тропических трав меняются от минус 9 до минус 15 ‰. Водоросли и лишайники образуют промежуточную группу, характеризующуюся значениями $\delta^{13}\text{C}$ от минус 12 до минус 23 ‰. В целом растения различных видов, произрастающие в одинаковых условиях, могут обладать несколько различающимися значениями, но растения одного вида, произрастающие в одних и тех же климатических условиях, характеризуются совпадающими значениями $\delta^{13}\text{C}$ [24, 82, 119, 94].

Биохимическое воздействие на процесс распределения стабильных изотопов легких элементов в первую очередь углерода и кислорода в природных объектах обусловлено фотосинтезом, а именно особенностями механизма усвоения углекислого газа и воды в ходе метаболизма [15-16, 72, 98, 191, 182, 171, 120].

В ряде исследований было установлено, что биомасса неоднородна в части изотопного состава. Характер этой неоднородности закономерен. В липидной фракции содержится больше легких изотопов, чем в углеводной, а в последней их больше, чем в белковой. При более детальном изучении изотопного состава индивидуальных компонентов растений также были выявлены изотопные различия [85-86, 22, 119].

Изучение Эйблсоном и Хоурингом внутримолекулярного изотопного распределения углерода в аминокислотах белковой фракции фотосинтезирующих организмов положило начало исследованиям изотопных эффектов биосоединений на молекулярном уровне. Оказалось, что различные фрагменты молекул в разной степени обогащены «тяжелым» изотопом углерода ^{13}C . Эта внутримолекулярная изотопная гетерогенность также вполне закономерна и связана с внутриклеточным синтезом. Изотопные эффекты, возникающие в процессах метаболизма в клетке, в конечном счете определяют изотопный состав как отдельных компонентов, так и фракций всего организма в целом. Внутримолекулярную изотопную неоднородность можно объяснить тем, что цикл синтеза трехуглеродных соединений не только снабжает субстратами другие метаболические циклы, но и сам подпитывается из общего метаболического фонда глюкозы за счет обратимых реакций. Поэтому в этот цикл попадет «биогенный углерод», обогащенный «легким» изотопом ^{12}C . Это обеспечивает изотопную облегченность субстратов, участвующих в превращениях цикла, относительно ассимилируемой CO_2 . Поэтому при ассимиляции CO_2 рибулозодифосфатом внутримолекулярный изотопный эффект возникает уже в силу исходных изотопных различий акцептора и ассимилянта («псевдоизотопный эффект»). Несмотря на рандомизацию углеродных атомов в цикле, полного размывания изотопных различий не происходит благодаря непрерывному поступлению в цикл потока CO_2 из среды с большей концентрацией «тяжелого» изотопа ^{13}C и потока «биогенного углерода» из метаболического фонда, обогащенного «легким» изотопом ^{12}C . Этому способствует также стереоспецифичность фермент-субстратных взаимодействий. В результате те группы, где сохраняется повышенная концентрация экзогенного углерода, оказываются обогащенными «легким» изотопом ^{12}C . Анализ путей биосинтеза компонентов показывает, что ассимиляция в цикле трехуглеродных соединений приводит к накоплению тяжелого углерода в карбоксильных группах аминокислот семейства триоз [15, 82, 85, 77, 118].

Некоторые исследователи, изучая изотопное фракционирование при дыхании, обратили внимание на то, что при темновом дыхании, наступающем сразу после светового периода, происходит закономерное изменение изотопного состава выдыхаемой CO_2 . В начале темнового периода CO_2 максимально обогащена «тяжелым» изотопом, а затем теряет его и становится в изотопном отношении легче, чем углерод самого организма. Это объясняется тем, что изменение изотопного состава CO_2 должно определяться изменением изотопного состава углерода окисляемых субстратов. Известно, что в первую очередь в окислительном цикле Кребса сгорают накопленные в световой период углеводы. При переходе от светового периода к темновой фазе меняется соотношение потоков. C_2 -фрагменты, которые образуются при декарбоксилировании пирувата, полностью идут в цикл Кребса и связывают недекарбоксилированный пируват в отношении 1:1, таким образом, происходит полное сжигание окисляемых субстратов. При этом фракционирования не происходит, изотопный состав CO_2 отражает изменение изотопного состава углеводов [72, 86, 24, 31, 118, 120].

Углеводы, образованные в световой период, наиболее обогащены «тяжелым» изотопом ^{13}C , так как содержат максимальную долю углеводов, синтезированных в цикле трехуглеродных соединений и обладают поэтому повышенной концентрацией внешнего углерода. В процессе темнового дыхания убыль углеводов восполняется в основном за счет липидно-углеводного обмена, то есть концентрация ^{13}C в них падает, что и вызывает облегчение выдыхаемой углекислоты в атмосферу, а в период строго голодания растения существенную роль приобретает белково-углеводный обмен, концентрация легкого изотопа углерода в выдыхаемой CO_2 возрастает. В настоящее время известны C_3 - и C_4 -пути фиксации CO_2 , САМ-метаболизм (фотосинтез по типу толстянковых) и фотодыхание [14, 181, 82, 80, 85].

1.5.2 C₃-путь фотосинтеза (цикл Кальвина)

Данный способ ассимиляции растениями CO₂ был установлен в 1957 г. группой американских исследователей под руководством М. Кальвина. Схема последовательности реакций получила название цикла Кальвина. Цикличность и разветвленность процесса является характерной особенностью восстановления CO₂. Разветвленность обеспечивается образованием разнообразных продуктов, дублированием путей регенерации акцептора CO₂, а цикличность – саморегуляцией, высокой производительностью и непрерывностью образования углеводов. Цикл Кальвина состоит из трех этапов: карбоксилирования, восстановления и регенерации акцептора CO₂ [82, 98, 16, 80, 85, 50, 119, 30].

В цикле Кальвина первичными продуктами включения CO₂ в органические вещества и восстановления являются трехуглеродные соединения (3-фосфоглицериновая кислота, фосфоглицериновый альдегид, фосфодиоксиацетон), поэтому этот способ фиксации CO₂ носит название C₃-пути фотосинтеза. Одна из реакций процесса усвоения углекислого газа и воды протекает при участии фермента рибулозо-1,5-бисфосфат-карбоксилаза, который обладает избирательностью по отношению к «легкому» изотопу углерода ¹²C.

Для синтеза одной молекулы глюкозы должно произойти 6 оборотов цикла. В каждом обороте цикла используются три молекулы АТФ (две для активирования двух молекул фосфоглицериновой кислоты (ФГК) и одна при регенерации акцептора CO₂ рибулозо-1,5-дифосфата (1,5-РДФ). Поэтому для синтеза одной молекулы глюкозы в цикле Кальвина необходимо 12 молекул НАДФ·Н и 18 АТФ. В этом заключается энергетический вклад световой фазы в темновую фиксацию CO₂. Такие растения характеризуются заметным фотодыханием и соответственно низким коэффициентом использования световой энергии. Оптимум их активности отвечает более высокой концентрации CO₂, чем в атмосфере. Этим особенностям соответствует определенная структура листа и ультраструктура хлорофиллоносной оболочки клетки. Большинство растений

используют именно этот путь восстановления CO_2 , что и привело называть их C_3 -растениями. Примерами таких растений являются виноград, сахарная свекла, пшеница, ячмень, цитрусовые, семечковые и фрукты [82, 50, 24, 31, 191].

1.5.3 C_4 -путь фотосинтеза (цикл Хэтча и Слэка)

Существует большая группа растений, включающая более 500 видов покрытосеменных, в которых в отличие от растений C_3 -пути фотосинтеза первичными продуктами фиксации CO_2 и восстановления являются четырехуглеродные соединения. В XX веке австралийские ученые М. Хэтч и Ч. Слэк предложили в 1965 г. законченную схему цикла темновых реакций, которая в дальнейшем получила название по фамилиям ученых, а группа растений получила название «группа C_4 -пути фотосинтеза». К C_4 -растениям относится ряд культурных растений тропического и субтропического происхождения, такие как просо, сорго, кукуруза, сахарный тростник и многие сорняки. Данные растения в основном осуществляют фотосинтез при повышенных температурах и в засушливых условиях произрастания [50, 82, 98, 85, 24, 118].

C_4 -путь фиксации CO_2 разделяется на две стадии: карбоксилирование, происходящее в клетках мезофилла и декарбоксилирование и синтез углеводов, идущие в клетках обкладки проводящих пучков. Следует отметить, что общим свойством для данного вида растений является то, что карбоксилированию подвергается фосфоенолпировиноградная кислота (ФЕП) при участии ФЕП-карбоксилазы и образуется щавелевоуксусная кислота (ЩУК), которая восстанавливается до яблочной кислоты или аминируется с образованием аспарагиновой кислоты. Щавелевоуксусная, яблочная и аспарагиновая кислоты являются четырехуглеродными соединениями.

Диоксид углерода, поступающий в лист через устьица, попадает в цитоплазму клеток мезофилла, где при участии ФЕП-карбоксилазы вступает в реакцию с ФЕП, образуя щавелевоуксусную кислоту (оксалоацетат), затем он в

хлоропластах восстанавливается до яблочной кислоты (малата) за счет НАДФ·Н, образующегося в ходе световой фазы фотосинтеза. Малат переносится в хлоропласты клеток обкладки сосудистого пучка, где происходит окислительное декарбоксилирование, продуктом которого является пировиноградная кислота (ПВК). Она снова диффундирует в мезофилл, где при участии АТФ, образованной в световой фазе, происходит регенерации карбоксилазы (ФЕП), после чего цикл карбоксилирования повторяется с участием новой молекулы CO_2 . Образовавшиеся в результате окислительного декарбоксилирования малата CO_2 и НАДФ·Н поступают в цикл Кальвина, что приводит к образованию фосfogлицериновой кислоты и других продуктов, свойственных также и C_3 -растениям. C_4 -путь фотосинтеза обеспечивает более полное усвоение CO_2 , что особенно важно для тропических растений, где основным лимитирующим фактором фотосинтеза является концентрация CO_2 в атмосфере. Эффективность усвоения углекислоты C_4 -растениями увеличивается также за счет подачи НАДФ·Н в хлоропласты клеток обкладки. К C_4 -типу растений относятся кукуруза, сахарный тростник, просо, сорго, ананас, сорняки и др. Физиолого-биохимические различия между C_3 - и C_4 -растениями показаны в таблице 3 [15, 82, 50, 118].

Таблица 3 - Основные характеристики C_3 - и C_4 -растений

Признак	C_3 -растения	C_4 -растения
Происхождение и основное местообитание	Умеренная зона	Тропическая и субтропическая зона
Мезофилл	Дифференцирован на столбчатую и губчатую ткань	Дифференцирован на основной мезофилл и клетчатки обкладки сосудистого пучка
Хлоропласты	Гранальные	Гранальные и агранальные
Первичный акцептор CO_2	Рибулозодифосфат	Фосфоенолпируват
Первичные продукты фотосинтеза	ФГК, ФГА, ФДА	ЩУК, малат, аспартат
Ключевой фермент	РДФ-карбоксилаза	ФЕП-карбоксилаза
Точка компенсации CO_2	0,003-0,01 %	0-0,0005 %
Фотодыхание	Есть	Нет
Световое насыщение фотосинтеза	При средней освещенности	Не достигается даже на полном солнечном свете

1.5.4 Фотосинтез по типу толстянковых (САМ-метаболизм)

Цикл Хэтча и Слэка обнаружен у растений-суккулентов из родов *Bryophyllum*, *Crassula* и др. Для этих растений не характерны структурные особенности C_4 -растений, существует суточный цикл метаболизма C_4 -кислот с образованием яблочной кислоты в ночное время суток. Название этого цикла усвоения углекислого газа из атмосферы получило САМ-метаболизм от английского выражения *Crassulacean acid metabolism*.

Устьица у этих растений открываются ночью, что уменьшает потери воды растениями. CO_2 , поступающий из атмосферы при участии ФЕП-карбоксилазы взаимодействует с фосфоенолпируватом, образуя щавелевоуксусную кислоту, далее кислота восстанавливается до малата, который накапливается в вакуолях клеток листа. Днем при закрытых устьицах в условиях недостатка влаги малат транспортируется в цитоплазму и там декарбоксилируется с образованием CO_2 , который включается в цикл Кальвина, участвуя в синтезе углеводов. Такой метаболизм не может обеспечить высокой продуктивности растений, но позволяет им существовать в засушливых местах [82, 24, 15, 181].

1.5.5 Фотодыхание

Фотодыхание — это индуцированное светом поглощение кислорода и выделение углекислоты, которое наблюдается в растительных клетках, содержащих хлоропласты. Первичным продуктом фотодыхания является гликолевая кислота, поэтому второе название данного метаболизма является гликолатное. Фотодыхание осуществляется в результате взаимодействия трех органелл — хлоропластов, пероксисом и митохондрий. Гликолатный путь приводит к синтезу аминокислот, таких как серин и глицин, при этом часть углерода, фиксированного в цикле Кальвина, теряется растением. Поэтому при интенсивном фотодыхании продуктивность фотосинтеза снижается.

У C_3 -растений при хорошей освещенности фотодыхание в 1,3-3 раза активнее, чем «темновое» дыхание. C_3 -растения в результате фотодыхания теряют 30-35 % углерода, ассимилированного в процессе фотосинтеза. У C_4 -растений углекислый газ, выделяющийся в результате фотодыхания, включается в клетках мезофилла в оксалоацетат и малат и благодаря этому реассимилируется растением. Расход на фотодыхание продуктов ассимиляции снижается до 0-6 %, это обеспечивает их высокую продуктивность.

Значение фотодыхания предполагает защитную роль растения. Сброс избыточной энергии позволяет предотвратить деструкцию фотосистем, избежать прекращения фотохимических процессов при высокой освещенности и недостатке CO_2 . Фотодыхание обеспечивает сбалансированность световой и темновой фаз фотосинтеза, их зависимость от потребности в продуктах фотосинтеза [82, 24, 119, 50].

1.5.6 Эндогенные механизмы регуляции фотосинтеза у растений

Известны следующие механизмы эндогенной регуляции фотосинтеза, которые могут оказывать влияние на характер изотопного фракционирования легких элементов в компонентах растений [82, 24, 118, 50, 12, 98, 15]:

1) Одним из основных факторов эндогенной регуляции фотосинтеза является проводимость листа для молекул CO_2 . Известны устьичная и остаточная проводимость. Устьичная проводимость у растений колеблется от 1 см/с, когда устьицы широко открыты и до 0,02 см/с при закрытых устьицах. Остаточная проводимость определяется проводимостью мезофилла, она имеет значения от 0,1-0,5 см/с у C_3 -растений и более 0,5 см/с у C_4 -растений. Более высокая мезофильная проводимость у C_4 -видов объясняется в основном незначительным фотодыханием. Устьичная проводимость у C_4 -растений ниже, чем у C_3 -растений по причине меньшего числа устьиц на единицу площади листьев и меньшими размерами устьичных щелей. Суммарная проводимость листа для молекул CO_2

выше для C_4 -растений, что определяет преимущество по интенсивности фотосинтеза;

2) Фотохимическое лимитирование фотосинтеза;

3) Биохимическое лимитирование фотосинтеза – реакции, катализируемые РДФ-карбоксилазой/оксигеназой, наиболее вероятное звено лимитирования скорости ассимиляции CO_2 ;

4) Гормональный эффект;

5) Донорно-акцепторные отношения – интенсивность фотосинтеза сильно зависит от запроса на ассимиляты со стороны потребляющих органов (акцепторов);

6) Накопление углеводов – повышенная концентрация сахарозы или крахмала в листе рассматривается как одним из основных факторов, обуславливающих снижение интенсивности фотосинтеза;

7) Возраст растения – интенсивность фотосинтеза, как правило, быстро возрастает в период интенсивного роста листовой пластинки, достигая наибольших значений у завершившего рост листа. Затем начинается постепенное снижение интенсивности фотосинтеза, которое обусловлено параллельным уменьшением проводимости устьиц и мезофилла для молекул CO_2 .

1.5.7 Природные факторы внешней среды, влияющие на процесс фотосинтеза

В окружающей среде можно выделить ряд внешних факторов, которые влияют на процесс фотосинтеза в растениях и тем самым на изотопное фракционирование легких элементов в компонентах растений [50, 82, 110, 118-119, 184-185, 11, 15, 150]:

1. Интенсивность света

В ходе процесса фотосинтеза используется только 1-3 % поглощенной солнечной энергии (ФАР), измеряемой в соответствии с международными

системами единиц в мкмоль фотонов/(м²·с). Фотосинтез у многих культурных С₃-растений насыщается при освещенностях ниже, чем полный солнечный свет, равный 2200 мкмоль/(м²·с). Следует отметить, что в посевах с высоким листовым индексом многие листья находятся в условиях недостаточного освещения из-за взаимного затемнения. В результате у посевов в отличие от листьев линейная фаза световой кривой длится дольше и светового насыщения видимого фотосинтеза не наблюдается. Не выявлено также светового насыщения фотоассимиляции СО₂ листьями и у С₄-растений. Максимальный фотосинтез у С₄-растений выше, чем у С₃-видов при нормальной температуре и был равен или ниже при низких положительных температурах. Максимальный фотосинтез сильно различается как между С₃- и С₄-типом фотосинтеза, так и в пределах каждого типа метаболизма углерода.

Диапазон интенсивности света при выращивании растений можно разделить на два участка - физиологический и стрессовый (недостаток или избыток света). В пределах первого процесс адаптации направлен на сохранение состояния гомеостаза в отношении прироста органических веществ при изменении прихода ФАР. Это получается за счет того, что теневые листья, имея большую в сравнении со световыми поверхность, используют ФАР на фотосинтез с более высоким КПД. При умеренном свете (10-50 % среднедневной интенсивности) образуются наиболее крупные листья с большими размерами клеток. В результате у листа теневой структуры внутренняя поверхность клеток превышает поверхность листа в 16-20 раз, а у светового листа – в 40-65 раз.

2. Спектральный состав света

Интенсивность фотосинтеза (ИФ) сильно зависит от качества света, поскольку максимумы поглощения хлорофиллом квантов света находятся в синей и красной областях спектра. Насыщение фотосинтеза происходит при более высокой освещенности у растений, выращенных на синем свете и они эффективнее используют более мощные лучистые потоки, чем растения, выращенные на красном свете.

Качество света не влияет на число и размеры хлоропластов в завершившем рост листе, поэтому различия по ИФ обусловлены в основном активностью единичного хлоропласта, которая выше у растений на синем свете. Это объясняется тем, что синий свет активизирует деятельность белоксинтезирующей системы клетки и хлоропласта, значительно повышая активность РДФ- и ФЭП-карбоксилазы. Также скорость транспорта электронов и фотофосфорилирования выше на синем свете, чем на красном и белом, что является необходимым энергетическим условием активного фотосинтеза. Выращивание на синем свете стимулирует включение продуктов фотосинтеза в белки и липиды, а на красном свете – растворимые углеводы и крахмал. Эти различия отмечены у C_3 - и C_4 -растений в широком диапазоне концентраций CO_2 и интенсивности света.

3. Температура

Влияние температуры как основного фактора на фотосинтез бывает обратимым и необратимым. В первом случае указанное влияние не выходит за пределы устойчивости отдельных звеньев фотосинтеза, определяемых генотипом и способом формирования листа. Зависимость активности отдельных звеньев фотосинтеза от температуры определяется условиями выращивания. При повышенной концентрации CO_2 более резко проявляется температурная зависимость активности РДФ-карбоксилазы, а фотодыхание сильно подавлено. Температурный оптимум фотосинтеза зависит также от уровня радиации при выращивании: с уменьшением освещенности снижается температурный оптимум фотосинтеза.

Температурная зависимость C_3 - и C_4 -цикла метаболизма углерода существенно различается. Например, кукуруза (C_4 -растение) способна поддерживать более высокую скорость фотосинтеза при повышенной температуре, чем пшеница, относящаяся к C_3 -растению. Вместе с тем C_3 - и C_4 -растения, произрастающие в теплом климате, имеют более высокий температурный оптимум и их фотосинтез не очень сильно ингибируется при повышенных температурах по сравнению с фотосинтезом видов растений,

адаптированных к холодным условиям произрастания. При низкой температуре виды, приспособленные к холоду, наоборот, имеют более высокую скорость поглощения CO_2 , чем те же виды, адаптированные к теплым условиям. Это объясняется тем, что виды, адаптированные к холоду, содержат больше растворимых ферментов и компонентов мембран, катализирующих важные реакции метаболизма углерода. В отличие от действия высокой температуры нарушения фотосинтетических процессов в листьях при низких температурах обычно происходят лишь после длительного воздействия. Понижение температуры в сочетании с ярким освещением оказывает более негативное действие, чем одно только понижение температуры. Это можно объяснить нарушением встраивания хлорофилла в мембрану хлоропласта, различием в действии этих температур на скорости реакций, ответственных за синтез компонентов мембран.

4. Водный режим

Дефицит воды сильно влияет на фотосинтез. Закрытие устьиц в результате водного дефицита вызывает снижение транспирации и поглощения CO_2 листьями. Реакция фотосинтеза на снижение влагообеспеченности строго видо- и сортоспецифична и обусловлена засухоустойчивостью растения. Фотодыхание, хотя и снижается по мере усиления водного дефицита, менее чувствительно к водному стрессу, чем ассимиляция CO_2 . По результатам исследований, проводимых Д. Бойером на ряде культур, отношение скорости фотодыхания к скорости истинной ассимиляции углекислоты увеличивается по мере снижения водного потенциала.

В основе регуляторной системы, координирующей фотосинтетическую способность листа и устьичную проводимость при дефиците влаги, лежит принцип компромисса между ассимиляцией CO_2 и испарением воды. Основная роль устьиц в этом процессе состоит в том, чтобы поддержать такую межклеточную концентрацию CO_2 , которая обеспечивала бы фотосинтез в зоне изгиба углекислотной кривой фотосинтеза. Именно в этой зоне достигается

максимальная эффективность транспирируемой воды, т.е. на каждый грамм воды поглощается максимально возможное количество CO_2 . При этом устьица регулируют свою открытость таким образом, чтобы поддерживать соотношение межклеточной и атмосферной концентрации CO_2 относительно постоянным (0,6-0,7 и 0,3-0,4 для C_4 - и C_3 -растений соответственно).

Реакция фотосинтеза на дефицит влаги зависит от множества сопутствующих факторов, таких как возраст листа, донорно-акцепторных отношений и скорости наступления стресса. Фотосинтез листа наиболее чувствителен к дефициту влаги в период роста. С завершением роста растения и по мере постепенного старения листа устойчивость ассимиляции CO_2 возрастает. Устойчивость фотосинтеза к водному стрессу повышается с увеличением концентрации CO_2 в воздухе и при повторном наступлении стресса. Чувствительность ассимиляции CO_2 к недостатку влаги сказывается также на дневном ходе фотосинтеза.

5. Минеральное питание

Элементы минерального питания (P, K, N, Fe и др.) могут влиять на интенсивность фотосинтеза прямо или косвенно через обмен веществ и рост. Прямое действие на фотосинтез связано с тем, что минеральные вещества входят в состав пигментов и ферментов или непосредственно участвуют в процессе фотосинтеза в качестве активаторов. Недостаток минеральных веществ или нарушенное соотношение между поглощаемыми элементами может повлиять на содержание хлорофилла и на число, размеры и ультраструктуру хлоропластов, даже если данные элементы не входят в состав молекулы хлорофилла.

Особое место среди питания занимает азот. Он влияет на размеры и ультраструктуру хлоропластов, усиливая их гранальность, увеличивает ИФ. Однако роль азота не ограничивается его влиянием только на формирование фотосинтетического аппарата и функционирование отдельных его звеньев. Активный метаболизм азота в листе нужен для адаптации растения к быстрым изменениям освещенности и других факторов внешней среды.

6. Болезни растений

Интенсивность фотосинтеза больных растений зерновых культур значительно ниже по сравнению со здоровыми. Это объясняется скорее нарушением структуры фотосинтетического аппарата, чем реакцией устьиц. Отрицательное влияние бактериальных инфекций на фотосинтез связано с интенсивным разрушением структуры хлоропласта, что обусловлено активным выделением бактериями токсинов в ткань растения. В 1981 г. Б. Буханан и его сотрудники смогли выделить два типа влияний вирусов на фотосинтез. В первом случае вирусная инфекция снижает число хлоропластов, но оказывает незначительное влияние на ИФ, во втором случае – подавляется фотофосфорилирование и фотосинтез, не оказывая особого влияния на мезоструктуру листа.

Завершая рассмотрение влияния внешних факторов, следует отметить, что газообмен растений отражает взаимодействие всех внутренних и внешних факторов [118, 120, 14-15, 136, 181, 85, 184]. Зависимость интенсивности фотосинтеза от концентрации CO_2 в воздухе – главного источника атмосферного углерода, используемого растениями, выражается углекислотной кривой фотосинтеза, имеющей вид прямоугольной гиперболы для C_4 -типа растений и непрямоугольной – для C_3 -растений. Углекислотное насыщение фотосинтеза у C_4 -растений, имеющих механизм концентрирования CO_2 , происходит при содержании углекислоты, близкой к естественной. Ее дальнейшее повышение, как правило, не увеличивает ИФ в отличие от C_3 -растений, у которых ИФ значительно возрастает. В результате C_3 -виды, уступая C_4 -растениям по интенсивности фотосинтеза в нормальных условиях, превосходят их при высокой концентрации CO_2 . С увеличением концентрации O_2 выше атмосферной ИФ подавляется в результате активации фотодыхания, а при снижении содержания кислорода, наоборот, ИФ возрастает. Однозначной реакцией растений на длительное выращивание при повышенной концентрации CO_2 являются увеличение площади листьев, уменьшение листовой обеспеченности биомассы,

возрастание чистой продуктивности фотосинтеза. Это сопровождается структурной и функциональной перестройкой фотосинтетического аппарата: увеличением толщины листовых пластинок, снижением содержания хлорофилла.

В 1989 г. группой ученых под руководством Фаркуара на основе экспериментальных данных было предложено уравнение (4), которое описывает влияние доступности углерода в окружающей среде на изотопный состав этого элемента ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) в растениях C_3 - и C_4 -группы фотосинтеза [118-119].

$$\delta^{13}\text{C}_p = \delta^{13}\text{C}_a - a - (b - a) \times C_i/C_a, \quad (4)$$

где $\delta^{13}\text{C}_p$ – изотопный состав углерода в растениях C_3 - и C_4 -группы фотосинтеза, ‰;

$\delta^{13}\text{C}_a$ – состав изотопов углерода в CO_2 атмосферы (напр., -7,8 ‰, зависит от географической широты и изменений концентрации CO_2 в атмосфере), ‰;

a – базовый коэффициент диффузии изотопомеров CO_2 в воздухе (4,4 ‰ разница между $^{13}\text{CO}_2$ и $^{12}\text{CO}_2$);

b – базовый коэффициент дискриминации изотопов углерода в C_3 - и C_4 -растениях, определяемый характером карбоксилирования с участием РДФ- и ФЕП-карбоксилаз (напр., -30 ‰ для C_3 -растений);

C_i – внутриклеточное парциальное давление CO_2 (зависит от влажности воздуха, температуры, почвенной влаги, количества осадков);

C_a – парциальное давление CO_2 в атмосфере (зависит от количества CO_2 , высоты, географического положения и характера местности);

C_i/C_a – 0,36...0,98 (примеры значений).

Взаимосвязанными с работой Фаркуара являются результаты исследований Дж. Троутона и К. Карда, которые в экспериментальных условиях роста в контролируемом температурном режиме ряда растений из группы C_3 -пути фотосинтеза (пшеница летняя (*Triticum aestivum* L.), посевной рис (*Oryza sativa* L.), лебеда копьевидная (*Atriplex hesitate* L.), посевная редька (*Raphanus sativus* L.), помидоры (*Lycopersicum esculentum* Mill.) и обыкновенный хлопчатник

(*Gossypium hirsutum* L.), показали прямую зависимость накопления в растительной ткани исследованных растений «тяжелого» изотопа углерода ^{13}C от основного внешнего фактора - температуры [181], которая описывается уравнением Троутона и Карда (5):

$$\delta^{13}\text{C} = -27,6 - 0,0125T, \quad (5)$$

где $\delta^{13}\text{C}$ – значение изотопа углерода в растениях, ‰;

T – температура роста растений, °C.

Исследованный эффект указывает на то, что температура роста растений является одним из главных фундаментальных природных факторов, оказывающих прямое влияние на изотопный обмен углерода в растениях [118, 181, 15, 184, 191].

1.5.8 Изотопный состав кислорода атмосферы и гидросферы

Кислород является одним из распространенных элементов в земной коре. Кислород имеет три стабильных изотопа, распространенность которых составляет приблизительно: $^{16}\text{O} = 99,6 \%$, $^{17}\text{O} = 0,037 \%$, $^{18}\text{O} = 0,199 \%$ [55, 89, 72].

Для молекул воды существует девять различных изотопных конфигураций молекул, массы которых приблизительно равны массовым числам: H_2^{16}O (18), H_2^{17}O (19), H_2^{18}O (20), $^1\text{HD}^{16}\text{O}$ (19), $^1\text{HD}^{17}\text{O}$ (20), $^1\text{HD}^{18}\text{O}$ (21), D_2^{16}O (20), D_2^{17}O (21), D_2^{18}O (22). Давление пара различных по изотопному составу молекул воды обратно пропорционально их массам. Следовательно, давление пара молекул H_2^{16}O выше давления пара молекул D_2^{18}O . В связи с этим водяной пар, образующийся при испарении жидкой воды, обогащен ^{16}O и ^1H , а оставшаяся вода обогащена «тяжелым» изотопом ^{18}O и D. Испарение воды приводит к аналогичным изотопным эффектам для кислорода и водорода: происходит преимущественное поступление «легкого» изотопа кислорода ^{16}O и ^1H в фазу пара, а ^{18}O и D концентрируются в жидкой фазе.

При образовании в облаках дождевых капель в результате конденсации водяного пара жидкая фаза обогащается «тяжелым» изотопом ^{18}O , так что изотопный состав кислорода в первых дождевых каплях подобен изотопному составу этих элементов в океанической воде. Продолжающееся преимущественное удаление из влажных воздушных масс изотопа ^{18}O приводит к обогащению оставшегося пара «легким» изотопом ^{16}O . Следовательно, значение $\delta^{18}\text{O}$ в атмосферном водяном паре в процессе выпадения дождя, снега или града постепенно уменьшается, значение этой величины в жидких и твердых осадках тоже становится отрицательным в результате обеднения пара ^{18}O [74, 50, 84, 171, 55].

В результате изотопного фракционирования при испарении океанической воды и последующей конденсации пара пресная вода, как правило, обедняется ^{18}O (обогащается ^{16}O) по сравнению с морской водой. Дансгорд установил, что наблюдается линейная зависимость между среднегодовыми значениями $\delta^{18}\text{O}$ в атмосферных осадках и среднегодовой температурой. Уравнение зависимости для атмосферных осадков выглядит следующим образом (6):

$$\delta^{18}\text{O}_{\text{cp}} = 0,695T - 13,6, \quad (6)$$

где $\delta^{18}\text{O}_{\text{cp}}$ – среднегодовое значение $\delta^{18}\text{O}$ в осадках, ‰;

T – среднегодовая температура воздуха в поверхностных слоях, °C.

Такой характер зависимости $\delta^{18}\text{O}$ от температуры воздуха отражает факт, что коэффициент разделения изотопов увеличивается при уменьшении температуры [84-85, 15, 74].

При движении влажных воздушных масс по направлению к высоким широтам значения $\delta^{18}\text{O}$ в дожде и снеге, выпадающих из этих воздушных масс, постепенно уменьшаются в результате действия ряда факторов, в т.ч. из-за:

- изотопного фракционирования, обусловленного разницей давления паров молекул воды с различным изотопным составом;

- понижения температуры воздушных масс и связанного с этим увеличения коэффициентов разделения;
- вторичного испарения воды из дождевых капель и воды, находящейся на поверхности Земли, что приводит к обогащению пара «легким» изотопом кислорода ^{16}O ;
- испарения воды растениями.

Таким образом, для изотопного состава кислорода и водорода воды наиболее значимый фактор – удаленность местности от океана [74, 84, 10, 157].

Кислород атмосферы значительно обогащен «тяжелым» изотопом ^{18}O ($\delta^{18}\text{O} = 23,5 \text{ ‰}$), это обусловлено преимущественным удалением из атмосферы «легкого» изотопа ^{16}O при дыхании растений. Кислород, образованный при фотосинтезе, выделяется вследствие разложения молекул H_2O и характеризуется значением $\delta^{18}\text{O}$, равным 5 ‰. Поскольку коэффициент разделения при изотопном обмене кислорода между водой и молекулярным кислородом практически равен единице, атмосферный кислород не находится в изотопном равновесии с гидросферой. Значение $\delta^{18}\text{O}$ в атмосферном CO_2 составляет 41 ‰. Коэффициент разделения при изотопном обмене кислорода между водой и CO_2 при 25 °C равен 1,0412, это означает, что атмосферная CO_2 находится в условиях, близких к достижению изотопного равновесия с океанической водой при 25 °C [85-86, 15].

Таким образом, анализ и обобщение научных данных, опубликованных отечественными и зарубежными учеными по теме фракционирования изотопов легких элементов в растениях показывают, что на этот процесс фракционирования углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ из окружающей среды влияют не только биохимические механизмы метаболизма растений, но и в значительной мере климатические условия их произрастания. В связи с этим задача по изучению влияния климатических условий выращивания винограда на распределение стабильных изотопов углерода и кислорода в компонентах растения, а также по изучению влияния техногенных факторов уделено приоритетное внимание. Основным методическим подходом в решении

поставленных задач является использование методологии масс-спектрометрии отношений стабильных изотопов легких элементов, что позволило усовершенствовать применяющиеся в настоящее время системы оценки качества винодельческой продукции.

Глава 2 ПРЕДМЕТ И ОБЪЕКТ ИССЛЕДОВАНИЙ, УСЛОВИЯ, МЕТОДЫ

2.1 Предмет и объект исследований

Предметом проведенного исследования являлся состав стабильных изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в углеводах винограда и экспериментальных винах, полученных способом микровиноделия по различным технологическим схемам производства, а также состав стабильных изотопов кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ во внутриклеточной воде винограда и воде экспериментальных вин.

Объектом исследования являлось природное фракционирование стабильных изотопов углерода и кислорода в растении C_3 -пути фотосинтеза – винограде (*Vitis vinifera* L.), протекающее под влиянием географических (климатических) факторов его произрастания, а также возможные изменения изотопного состава, возникающие под действием техногенных факторов в ходе применения технологических процессов переработки винограда на вино. В исследовании использовали образцы винограда красных и белых сортов, в т.ч. автохтонных, урожая 2015-2017 гг., отобранные в разных районах Краснодарского края, Крыма, Республики Дагестан и Ростовской области, а также столовые сухие вина, изготовленные способом микровиноделия.

Исследования ориентированы на гипотезу о взаимосвязи природного фракционирования изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ с климатическими условиями географического региона произрастания винограда и его первичной переработки. Согласно данной гипотезе в винограде, произрастающего в условиях относительного водного дефицита, высокой солнечной активности и температурного режима, состав молекул компонентов в т.ч. углеводов и внутриклеточной воды, в ходе термодинамических процессов природного фракционирования будет характеризоваться более высоким содержанием «тяжёлых» изотопов углерода (^{13}C) и кислорода (^{18}O).

Схема исследований приведена на рисунке 1.

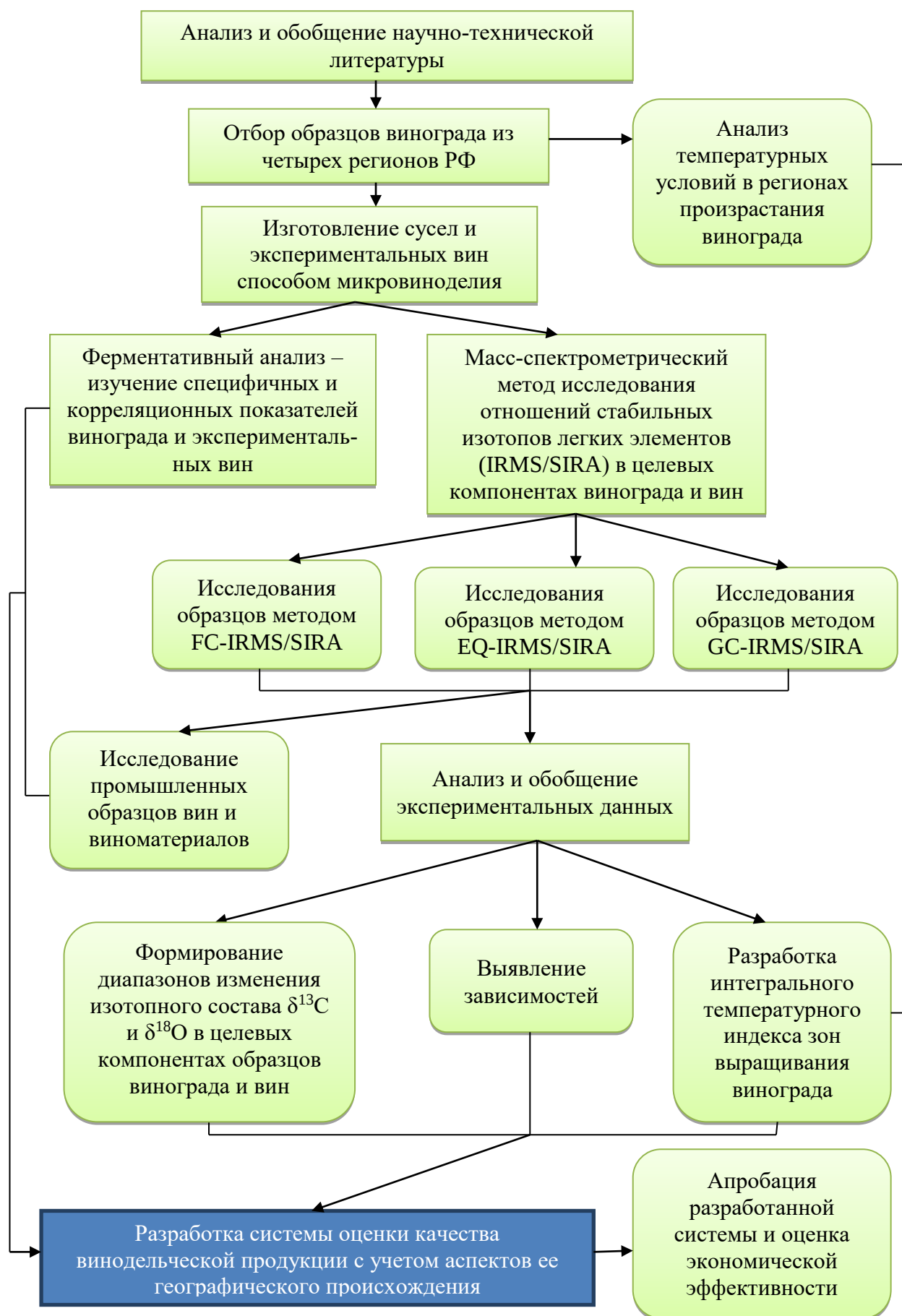


Рисунок 1 – Структурная схема исследований

При этом уровни обогащения изотопом углерода ^{13}C таких компонентов винограда как углеводы (напр., D-глюкозы, D-фруктозы) эквивалентны друг другу, в то время как для состава изотопов углерода этанола вина, выработанного из соответствующего винограда, характерно пониженное содержание «тяжёлого» изотопа углерода ^{13}C в сравнении с исходным изотопным составом углеводов (общий сахар винограда/виноградного сусла), из которых данный этанол был получен в ходе брожения [39, 42, 144, 29].

Проведены исследования промышленных вин и виноматериалов, произведенных на территории Российской Федерации, стран СНГ, ближнего и дальнего зарубежья. Все сухие столовые вина, изготовленные из изученного винограда и промышленные образцы вина, соответствовали требованиям нормативной документации - ГОСТ Р 32030-2013 «Вина столовые и виноматериалы столовые. Общие технические условия» [19].

2.1.1 Исследование винограда, выращенного на территории Российской Федерации и изготовленных из него столовых вин

Отбор образцов винограда производился в стадии его технической зрелости согласно схеме, которая предусматривала сбор средней пробы на винограднике площадью 5 га (500×100 м) путем прохождения участка по его диагонали и отборе гроздей с визуально спелыми и здоровыми ягодами через каждые 5 рядов с разных сторон лоз и на разной высоте от поверхности почвы. Вес средней пробы одного образца винограда составлял от 10 до 20 кг. Качество отобранных образцов винограда контролировалось по соответствию нормативным требованиям, приведенным в ГОСТ 31782-2012 «Виноград свежий машинной и ручной сборки для промышленной переработки. Технические условия» [20].

Способы переработки винограда способом микровиноделия предусматривали применение следующих принципиальных схем изготовления сусла и экспериментальных вин [13, 8, 88, 5, 2, 28], которые не приводили к изменению изотопного

состава углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в целевых компонентах исходных образцов винограда:

- Получение консервированного сусла из винограда красных и белых сортов: переработка винограда белых и красных сортов (прессование с гребнеотделением) → отделение мезги → стерилизация сусла при температуре $t = 100\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 10 мин → розлив в стерильную тару.
- Получение белых сухих вин (брожение сусла): переработка винограда белых сортов (прессование с гребнеотделением) → отделение мезги → сульфитация сусла (70-75 мг/л общего диоксида серы) → введение дрожжевой разводки (раса 47-К, 2 % объема) → брожение при $t = 18\text{-}20\text{ }^{\circ}\text{C}$ с периодическим перемешиванием → снятие с дрожжевого осадка при сбраживании $2/3$ сахаров → дображивание и самоосветление → отстаивание и снятие с осадка → сульфитация (200 мг/л общего диоксида серы).
- Получение красных сухих вин (брожение сусла с настаиванием мезги): переработка винограда (прессование с гребнеотделением) → сульфитация (70–75 мг/л общего диоксида серы) → настаивание мезги 24 часа → прессование мезги → введение дрожжевой разводки (расы 47-К, 2 % объема) → брожение сусла при $t = 18\text{-}20\text{ }^{\circ}\text{C}$ → снятие с дрожжевого осадка при сбраживании $2/3$ сахаров → дображивание и самоосветление → отстаивание и снятие с осадка → сульфитация (200 мг/л общего диоксида серы).

Изучением компонентного состава (специфичных и корреляционных показателей) образцов экспериментальных вин, проведенного с помощью ферментативного анализа по методам из [35], было установлено, что объемная доля этилового спирта в винах не превышала 14,0 % об., массовая концентрация глицерина находилась в пределах от 6,0 до 12,0 г/дм³, массовая концентрация остаточных сахаров не превышал 4,0 г/дм³, а глицериновый фактор (расчетный показатель) находился в диапазоне от 5,1 до 15,0 г/дм³.

2.1.1.1 Краснодарский край

Сезон 2016 года

В 2016 г. исследования проводились на образцах винограда красного сорта Каберне Совиньон и белого сорта Шардоне, отобранных на виноградниках 9 винодельческих хозяйств и произрастающих в различных климатических условиях 4 районов – район № 1 (вблизи г. Новороссийска, поселки: Большие хутора, Семигорье и Мысхако), район № 2 (Темрюкский, поселок Виноградный, станицы: Тамань и Старотитаровская), район № 3 (Анапский, поселок Виноградный), район № 4 (Крымский, село Молдаванское). Отбор образцов винограда производился в октябре 2016 г. в стадии их технической зрелости согласно схеме отбора проб. Сведения о промышленных посадках изучаемых сортов винограда (сезон 2016 г.) приведены в таблицах 4-5.

Таблица 4 – Районы выращивания винограда сорта Каберне Совиньон

№	Район	Населенный пункт	Хозяйство	Площадь участка, га	Возраст виноградника, лет
1	Новорос- сийск (район № 1)	п. Большие хутора	ООО «Абрау-Дюрсо»	4,5	8
2		п. Семигорье	Вилла Виктория	1,46	7
3		п. Семигорье	Имение Сикоры	5	8
4		п. Мысхако	Мысхако	8	8
5	Темрюкский (район № 2)	ст. Тамань	АФ «Южная»	25	24
6		ст. Старотитаров- ская	ТВК «Кубань»	56	10
7		п. Виноградный	АФ «Победа» (ЮВК)	4,5	5
8	Анапский (район № 3)	п. Виноградный	АФ «Южная»	18,22	10
9	Крымский (район № 4)	с. Молдаванское	Лефкадия	2	6

Таблица 5 – Районы выращивания винограда сорта Шардоне

№	Район	Населенный пункт	Хозяйство	Площадь участка, га	Возраст виноградника, лет
10	Новорос- сийск (район № 1)	п. Большие хутора	ООО «Абрау-Дюрсо»	18,4	30
11		п. Семигорье	Вилла Виктория	21,0	7
12		п. Семигорье	Имение Сикоры	1,1	3
13		п. Мысхако	Мысхако	8,56	16
14	Темрюкский (район № 2)	ст. Тамань	АФ «Южная»	1,0	3
15		ст. Старотитаров- ская	ТВК «Кубань»	25	10
16		п. Виноградный	АФ «Победа» (ЮБК)	27,3	12
17	Анапский (район № 3)	п. Виноградный	АФ «Южная»	12	18
18	Крымский (район № 4)	с. Молдаванское	Лефкадия	1,0	7

В 2016 году в исследованиях участвовали девять сусел из белого сорта винограда Каберне Совиньон и девять сусел из красного сорта винограда Шардоне и соответственно восемнадцать образцов экспериментальных вин. Общие сведения о температурных условиях произрастания винограда в четырех районах Краснодарского края приведены на рисунке 2.

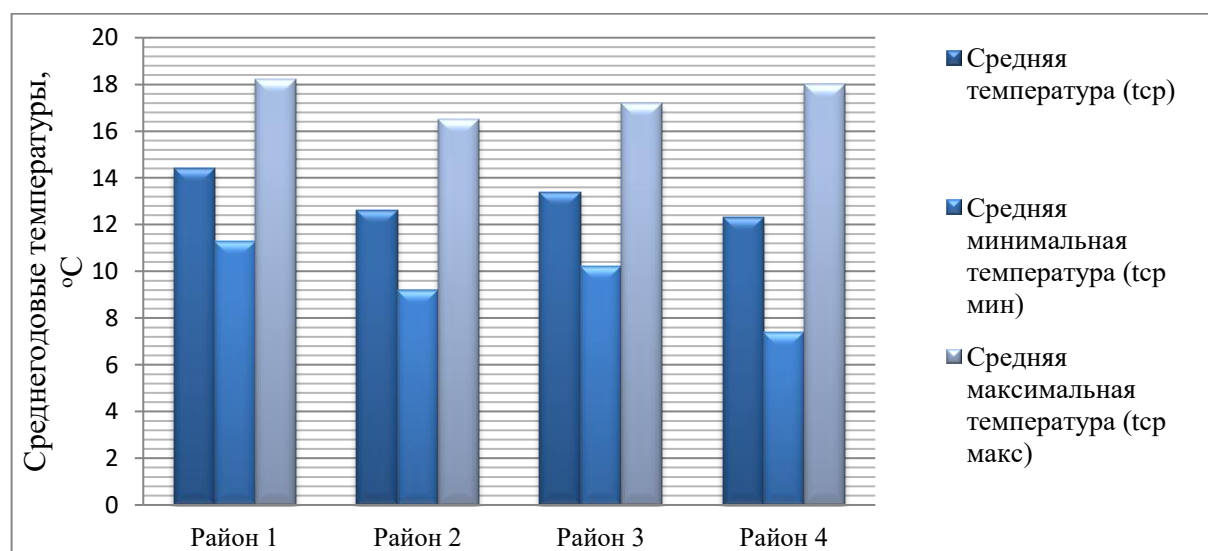


Рисунок 2 – Среднегодовые температуры исследованных районов Краснодарского края (2016 г.)

Сезон 2017 года

В 2017 г. были отобраны образцы винограда трех белых и пяти красных сортов, произрастающих вблизи поселка Семигорье (район № 1) недалеко от г. Новороссийска. Данные о посадках винограда представлены в таблице 6. Отбор образцов винограда производился в октябре 2017 г. в стадии их технической зрелости, определяемой требованиями в [20] согласно схеме отбора проб.

Таблица 6 - Образцы винограда, отобранные в виноградно-винодельческом хозяйстве «Имение Сикоры» (район № 1)

№	Сорт винограда	Площадь участка, га	Возраст виноградника, лет
1	Шардоне	1,23	4
2	Совиньон Блан	1,15	4
3	Рислинг	2,42	4
4	Каберне Совиньон	5,5	10
5	Мерло	2,4	10
6	Пино Нуар	2,66	4
7	Каберне Фран	2,04	1
8	Красностоп Золотовский	1,76	3

Общие сведения о температурных условиях произрастания винограда на территории хозяйства «Имение Сикоры» (район № 1) приведены на рисунке 3.

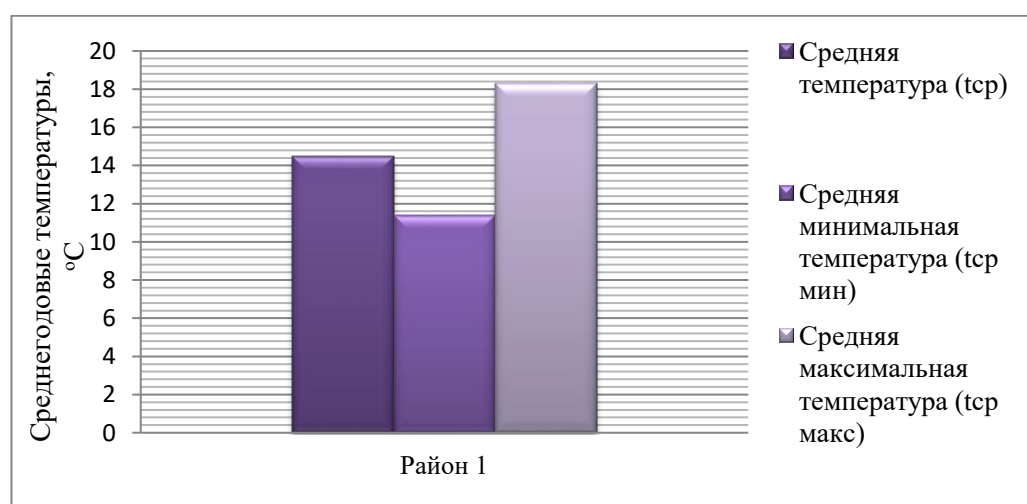


Рисунок 3 – Среднегодовые температуры района выращивания винограда (2017 г.)

В 2017 г. были исследованы шестнадцать образцов (восемь образцов сусла и восемь сухих вин) винодельческой продукции из данного района.

2.1.1.2 Ростовская область

В 2016 г. был отобран виноград двух красных сортов Саперави северный, Цимлянский черный и одного белого сорта Бианка с виноградников двух районов Ростовской области: Цимлянского (п. Саркел) и Мартыновского (х. Малая Мартыновка). Информация о районах произрастания винограда и погодноклиматических условиях его выращивания представлены в таблице 7 и на рисунке 3 соответственно.

Таблица 7 – Районы выращивания винограда сортов Бианка, Саперави северный, Цимлянский черный

№	Населенный пункт (район)	Сорт винограда	Площадь участка, га	Месяц отбора проб
1	Цимлянский, п. Саркел (район № 1)	Бианка	25	Август
2		Саперави северный	23	Сентябрь
3		Цимлянский черный	9,6	Сентябрь
4	Мартыновский, х. Малая Мартыновка (район № 2)	Бианка	23	Август
				Август
				Август

Общие сведения о температурных условиях произрастания винограда в двух районах Ростовской области приведены на рисунке 4.

В 2016 году из Ростовской области были предоставлены четыре образца сусла и четыре образца вина для дальнейших исследований.

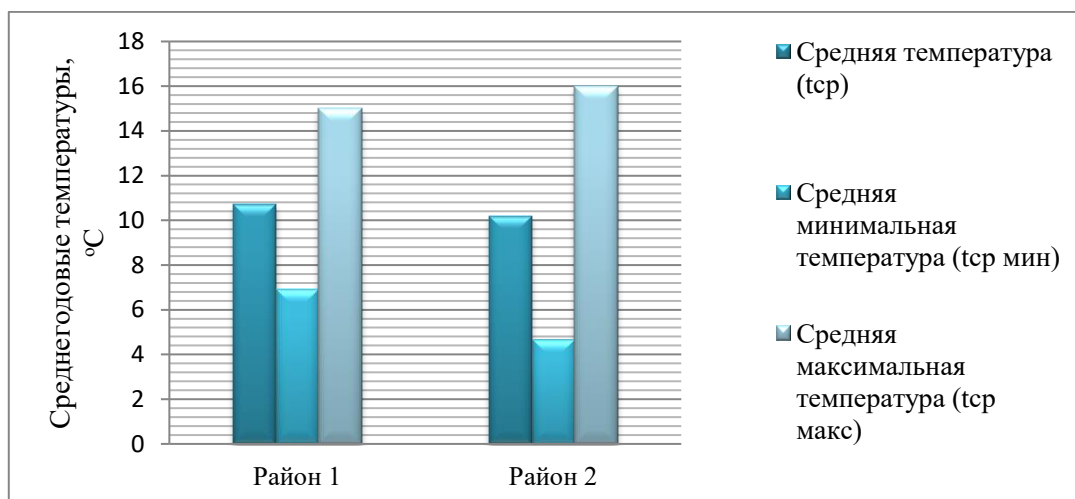


Рисунок 4 - Среднегодовые температуры изучаемых районов выращивания винограда (2016 г.)

2.1.1.3 Республика Дагестан

В 2016 г. в Республике Дагестан были отобраны образцы винограда одного красного сорта Каберне Совиньон и двух белых сортов - Ркацители и Рислинг, произрастающих в четырех географических районах (таблица 8). Образцы были собраны после достижения их технической зрелости в октябре 2016 г.

Из Республики Дагестан были получены семь образцов сусла на исследования и соответственно семь образцов экспериментальных вин, изготовленных способом микровиноделия.

Таблица 8 – Районы выращивания винограда трех сортов

№	Район	Хозяйство	Сорт винограда	Площадь участка, га
1	Дербентский (район № 1)	СПК Казимова	Ркацители	40
2			Каберне Совиньон	10
3		ЗАО им. Ш. Алиева	Ркацители	40
4			Каберне Совиньон	10
5	Сергокалинский (район № 2)	ДКК СТ КФХ Омарова	Каберне Совиньон	42,5
6	Сулейман-Стальский (район № 3)	ООО «Зардиян»	Рислинг	100
7	Магарамкентский (район № 4)	ФГУП «Гоганское»	Ркацители	108

Общие сведения о температурных условиях произрастания винограда в четырех районах Дагестана приведены на рисунке 5.

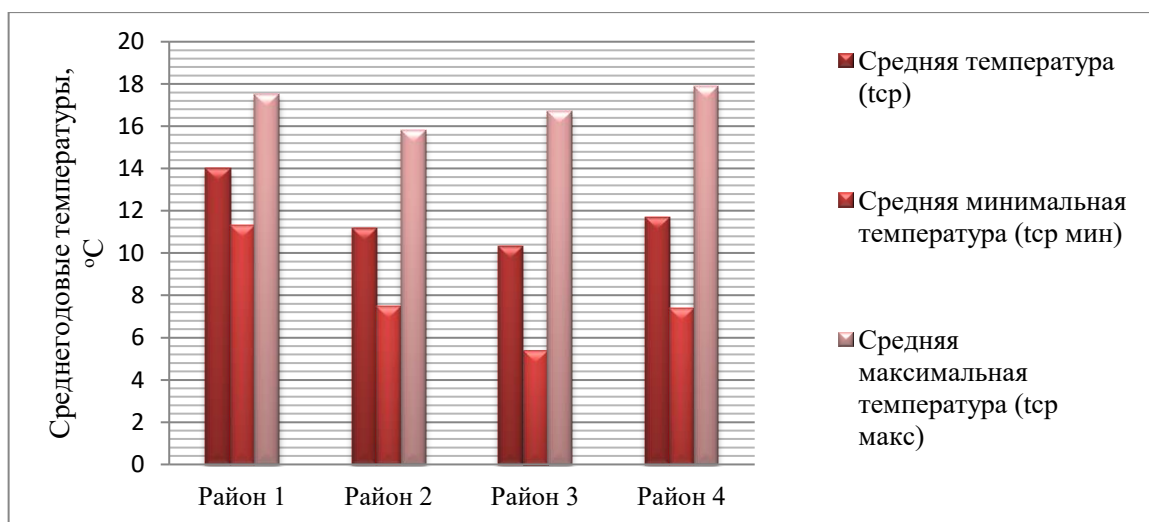


Рисунок 5 – Среднегодовые температуры изучаемых районов выращивания винограда (2016 г.)

2.1.1.4 Крым

Сезон 2015 года

В 2015 г. в исследованиях участвовали одиннадцать образцов винограда красных и белых сортов и полученные из них сухие вина. Данные о винограде представлены в таблице 9. Образцы винограда отбирались в октябре 2015 г.

В дальнейших исследованиях участвовали отобранные образцы сусла и одиннадцать образцов сухих вин, изготовленных из данных сортов винограда.

Таблица 9 - Промышленные посадки технических сортов винограда в Крыму

№	Зона произрастания (район)	Название населенного пункта, в округе которых расположены виноградники	Сорт винограда	Площадь, га
1	Западный Южнобережной зоны (район № 1)	п. Ай-Даниль	Мускат белый	5
2			Каберне Совиньон	1,4
3			Гарс Левелю	3
4			Бастардо Магарачский	4,4
5			Каберне Совиньон	300
6			Мускат белый	40
7	Западный предгорно-приморский (район № 3)	п. Угловое	Каберне Совиньон	90
8			Алиготе	92
9	Восточный Южнобережной зоны (район № 4)	с. Морское	Кефесия	12
10			Эким Кара	9
11	Восточный Южнобережной зоны (район № 4)	с. Морское	Буковинка	15

Общие сведения о температурных условиях произрастания винограда в четырех районах Крыма приведены на рисунке 6.

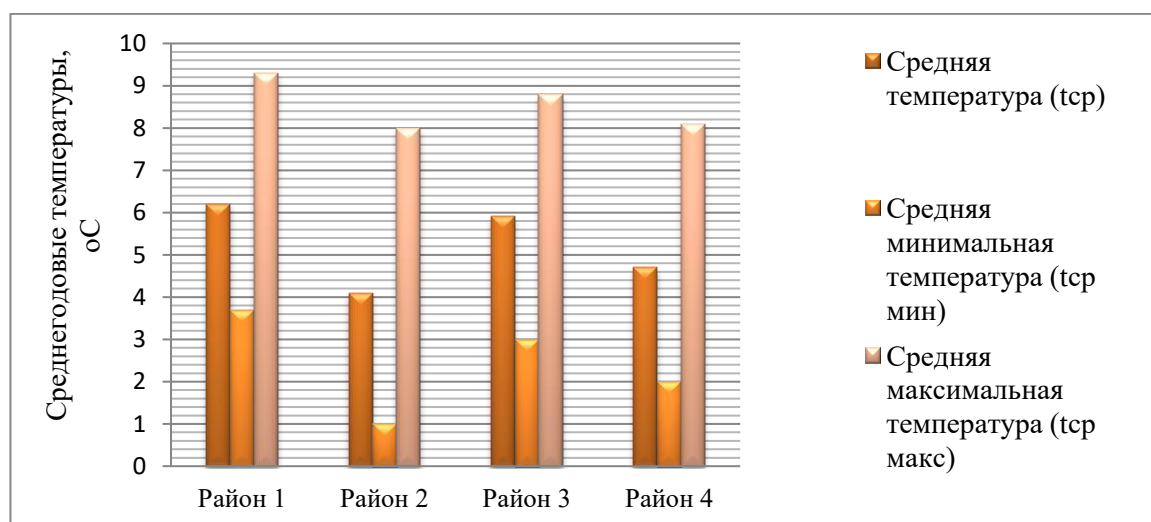


Рисунок 6 – Среднегодовые температуры изучаемых районов выращивания винограда (2015 г.)

Сезон 2016 года

В 2016 году были отобраны образцы красного сорта винограда Каберне Совиньон и белых сортов - Алиготе и Ркацители, произрастающие в различных климатических условиях четырех виноградарских районах. Информация о посадках винограда представлена в таблице 10.

Таблица 10 - Посадки винограда сортов Каберне Совиньон, Алиготе и Ркацители

№	Район произрастания (район)	Название населенного пункта, в округе которых расположены виноградники	Сорт винограда	Месяц отбора винограда
1	Западный предгорно-приморский (район № 3)	п. Угловое	Алиготе	Сентябрь
2			Каберне Совиньон	Октябрь
3		с. Плодовое	Ркацители	Сентябрь
4			Каберне Совиньон	
5	Западный Южнобережной зоны (район № 1)	г. Ялта	Каберне Совиньон	Октябрь
6			Ркацители	
7	Восточный Южнобережной зоны (район № 4)	п. Коктебель	Алиготе	Сентябрь
8			Каберне Совиньон	
9	Западный приморско-степной (район № 2)	с. Ромашкино	Каберне Совиньон	Сентябрь

Общие сведения о температурных условиях произрастания винограда в четырех районах (сезон 2016 года) приведены на рисунке 7.

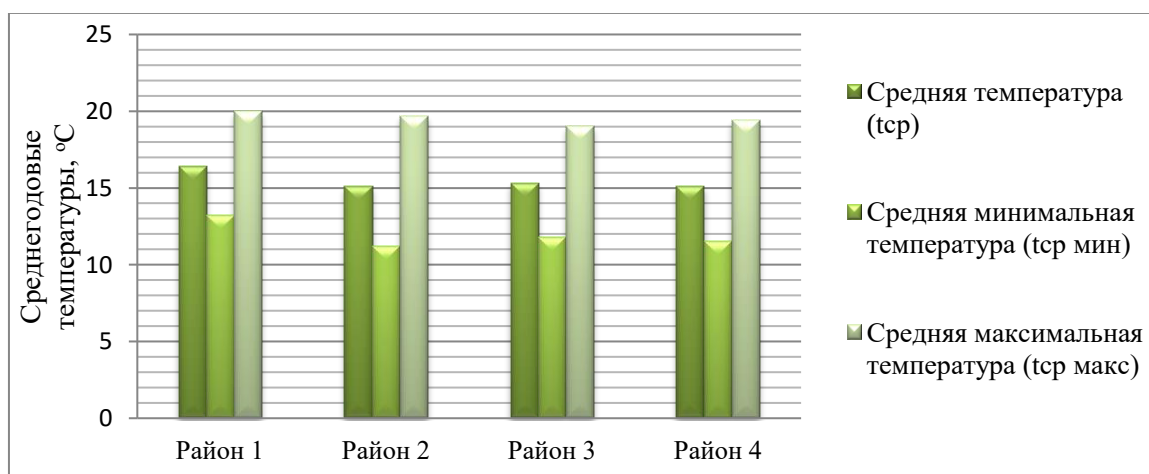


Рисунок 7 – Среднегодовые температуры районов выращивания винограда Крыма

В 2016 г. из четырех районов Крыма были получены для дальнейших исследований девять образцов сусла и девять образцов изготовленных из них сухих вин.

Сезон 2017 года

В 2017 г. были определены и отобраны девять образцов винограда, произрастающих в различных климатических условиях в трех виноградарских районах. Данные о сортах винограда и месте их произрастания представлены в таблице 11.

Таблица 11 – Промышленные посадки технических сортов винограда

№	Район произрастания	Название населенного пункта, в округе которых расположены виноградники	Сорт винограда	Месяц отбора винограда
1	Западный приморско-степной (район № 2)	с. Ромашково	Мерло	Сентябрь
2			Совиньон Зеленый	Сентябрь
3	Западный Южнобережной зоны (район № 1)	п. Гурзуф	Алиготе	Сентябрь
4			Сира	Октябрь
5	Западный предгорно-приморский (район № 3)	п. Угловое	Каберне Совиньон	Октябрь
6			Ркацители	Сентябрь
7			Мерло	Сентябрь
8			Алиготе	Сентябрь
9			Шардоне	Сентябрь

Общие сведения о температурных условиях трех районов произрастания винограда приведены на рисунке 8.

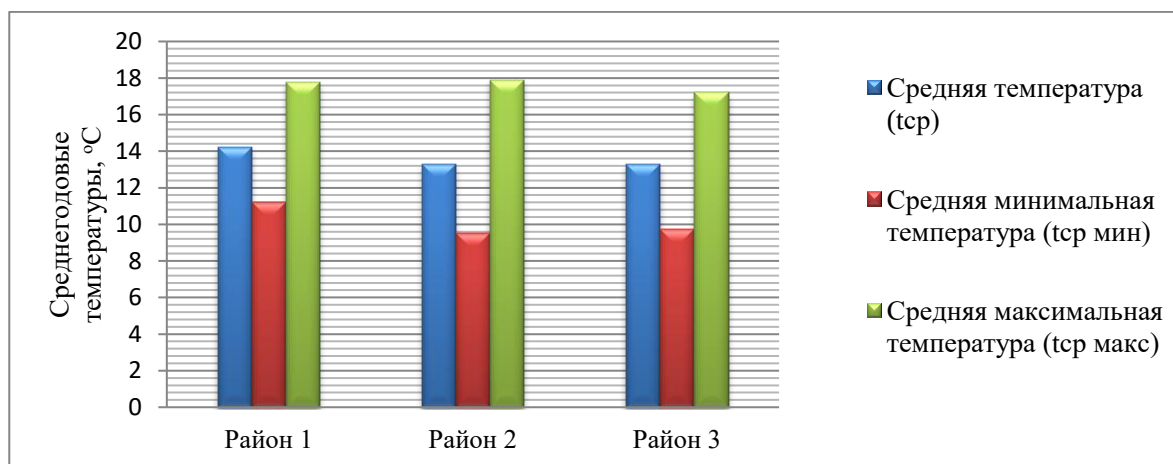


Рисунок 8 – Среднегодовые температуры районов выращивания винограда Крыма (2017 г.)

В 2017 г. исследовались девять образцов сусла и девять образцов полученных из них сухих экспериментальных вин способом микровиноделия.

2.1.2 Исследование промышленных сухих вин и виноматериалов, произведенных в Российской Федерации, странах СНГ, ближнем и дальнем зарубежье

Для исследования характера техногенного воздействия на изотопный состав целевых компонентов вин и виноматериалов, было проведено исследование промышленных вин и виноматериалов, изготовленных в Российской Федерации, странах СНГ, ближнем и дальнем зарубежье. В зависимости от географического происхождения образцы промышленных вин были разделены на три группы:

- вина и виноматериалы, произведенные российскими предприятиями (таблица А1 Приложение А);
- вина и виноматериалы, произведенные странами СНГ и ближнего зарубежья (таблица А2 Приложение А);
- вина и виноматериалы, произведенные зарубежными виноградно-винодельческими хозяйствами (таблица А3 Приложение А).

Для исследований отбирались сухие вина и виноматериалы, соответствующие выбранным категориям: столовые вина и виноматериалы, продукция с защищенным наименованием места происхождения и с защищенным географическим указанием.

2.2 Характеристика зон произрастания винограда

1. Краснодарский край

Новороссийская зона с центром в городе Новороссийск расположена на юго-западе края, на побережье Цемесской бухты Чёрного моря. Новороссийск является одним из немногих городов России, в котором преобладает субтропический, мягкий климат, близкий к средиземноморскому. Летом средняя климатическая температура укладывается в интервале от плюс 20 до плюс 25 °С (максимум до плюс 39 °С). Зимой погода неустойчивая в среднем 0 °С, но в последнее время участились морозы, которые достигают отметки минус 15 °С. Осадков за год выпадает в среднем до 600 мм. Сумма активных температур колеблется от 3000 до 4000 °С. В Новороссийске осенью-зимой наблюдаются сильные холодные шквалистые северо-восточные ветра, возможно прохождение активных атмосферных фронтов. В 14 км от Новороссийска находится самое большое пресноводное озеро Краснодарского края - Абрау. Виноградники размещаются преимущественно на дерново-карбонатных и бурых лесных почвах [75].

2. Ростовская область

Цимлянский район расположен в северо-восточной части Ростовской области, граничит с Волгоградской областью, рядом расположено Цимлянское водохранилище. Мартыновский район расположен в восточной части Ростовской области, в её центральной орошаемой зоне, в междуречье Дона и Сала. Рельеф в основном равнинный. Ростовская область характеризуется умеренно-континентальным климатом. В северо-восточной части более выражена

континентальность. Преобладают ветра восточного и западного направления. Климатический режим в течение года существенно меняется, метеорологические сезоны года, как правило, не совсем совпадают с календарными. Средние температуры января от минус 9 °С до минус 5 °С, июля от плюс 22 °С до плюс 24 °С. Абсолютная минимальная температура наружного воздуха минус 33 °С, а абсолютно максимальная температура наружного воздуха плюс 40 °С. Годовое количество осадков колеблется от 400 до 650 мм в год. Всего за теплый период (апрель-октябрь) выпадает по территории от 200 до 300 мм осадков. Вегетационный период 170-190 дней. [34].

3. Республика Дагестан

Дагестан расположен в восточной части Кавказа, вдоль побережья Каспийского моря. Климат - умеренный континентальный, засушливый. Можно выделить три основных зоны: высокогорная, равнинная и прибрежная. Для горной области характерны более низкая температура и высокая влажность, тогда как полупустынные и пустынные равнинные районы напротив отличаются сухим климатом и высокой температурой воздуха. Прибрежная зона Каспийского моря выделяется наличием сильных ветров. Лето на равнинах Дагестана длинное и жаркое. Оно начинается в первых числах мая и заканчивается в последней декаде сентября. Июль – самый теплый месяц, со средней температурой плюс 28 °С, но часто бывает жара до плюс 35 °С. Зима в Дагестане на равнинной и приморских частях начинается в декабре и продолжается три месяца. Самый холодный месяц – январь, с температурой минус 5 °С, но в низменностях возможны морозы до минус 20 °С и сильные ветры. На климат приморской области большое влияние оказывает Каспийское море. Здесь средняя дневная температура января составляет минус 1 °С, но при сильных восточных ветрах может подниматься до плюс 10 °С. Годовое количество осадков распределено по площади республики неравномерно. В пустынях и полупустынях на севере за год выпадает от 200 до 400 мм, приморская часть получает от 350 до 450 мм в год, в горах же выпадет от 800 до 1200 мм осадков. Вегетационный период составляет 200-240 дней [70].

Образцы винограда были отобраны из следующих четырех районов: 1) Дербентский (ООО хозяйства СПК «Казимова» и АО «Алиева») - участок расположен в южной подзоне на морском побережье; 2) Сергокалинский (хозяйство ООО «ДКК-СТ КФХ Омарова») - участок расположен в южной подзоне на предгорье Кавказских гор; 3) Сулейман-Стальский (хозяйство ООО «Зардиян») – участок расположен в южной подзоне на предгорье Кавказских гор; 4) Магарамкентский (хозяйство ООО «ФГУП Гоганское») – участок расположен в южной подзоне на морском побережье.

4. Республика Крым

Западный приморско-степной район занимает территорию от реки Булганак до озера Донузлав, охватывая почти весь Сакский район. Данная степная зона (районный центр - г. Евпатория) – умеренно жаркая, для неё характерна неустойчивая зима со значительными колебаниями температур. Удалённость от моря уступает место климатическим особенностям континентального характера, что выражается в уменьшении годовой температуры, росте амплитуды колебаний температуры и т.д. За период активной вегетации накапливается около 3500 °С активных температур воздуха выше плюс 10 °С, продолжительность периода – 191 день. Климат этого района засушливый. Годовое количество осадков составляет около 400 мм, из них в тёплый период выпадает 230 мм. Самым засушливым сезоном, как и в большинстве районов Крыма, является весна.

Западный предгорно-приморский район занимает территорию близ г. Севастополя и Балаклавы, а также западную часть Бахчисарайского района до реки Булганак. Климат умеренно тёплый, полувлажный, местами полусухой, с очень мягкой зимой. Средняя годовая температура воздуха составляет плюс 12,3 °С. За этот период накапливается 3650-3680 °С активных температур выше плюс 10 °С. Заморозки прекращаются рано весной и начинаются поздно осенью, и очень редко проходят с ущербом для винограда. Продолжительность безморозного периода 238 дней. Годовое количество осадков 380-450 мм. Осадки

тёплого периода составляют 45-55 % годовых сумм, в том числе на летние месяцы приходится 25-30 %.

Западный район Южнобережной зон, обозначаемый как Южный берег Крыма (ЮБК), занимает прибрежную полосу от мыса Форос до горы Кастель. Данный район защищён с севера горами, близко расположен к Чёрному морю. Эти географические факторы обуславливают формирование климата близкого к субтропическому: с тёплой, влажной зимой и жарким, сухим летом с малым количеством осадков и наибольшей тепло обеспеченностью. Период с температурой выше плюс 10 °С продолжается 7 месяцев. Опасные для винограда поздние весенние и ранние осенние заморозки в приморской зоне Южного берега Крыма почти отсутствуют. На ЮБК в приморской зоне суммы активных температур выше плюс 10 °С достигают 3700-4200 °С. Самые высокие температуры воздуха наблюдаются в июле-августе: средние из абсолютных максимумов составляют плюс 31-32 °С. Средняя годовая температура в данном районе плюс 13,5 °С. Годовое количество осадков на ЮБК составляет 750-900 мм.

Восточный горно-долинный приморский район Южнобережной зоны. Этот район имеет относительно мягкий зимний период, но отличается от западного более сильными морозами. Абсолютный минимум температуры воздуха в отдельные годы составляет минус 16-25 °С. Средний из абсолютных минимумов температуры воздуха составляет минус 9-14 °С. Продолжительность безморозного периода в приморской зоне составляет 229-236 дней, а продолжительность периода с температурой выше плюс 10 °С – 186-202 дня. Суммы активных температур воздуха выше плюс 10 °С за вегетацию в среднем составляют 3635-3820 °С. Осадков в год выпадает около 300-400 мм, в отдельные годы их сумма не превышает 130-200 мм [32, 8].

2.3 Интегральный индекс зон выращивания винограда

В соответствии с задачами исследования проведено изучение географических (климатических) особенностей зон выращивания винограда в Краснодарском крае, Ростовской области, Республике Дагестан и Крыма. Анализ метеорологических данных позволил выделить температуру как основной климатический фактор влияния на природу фракционирования стабильных изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в компонентах винограда, на примере, углеводов. Для анализа использованы массивы сетевых метеоданных [69], статистическая обработка которых проведена с применением программного пакета Noaamet и архива сводок ISH data NCDC (США) [121].

Для целей оценки географического происхождения винограда и, соответственно, изготовленных из него сухих вин, предложен новый количественный показатель – интегральный температурный индекс «Т» ($^{\circ}\text{C}$), расчёт которого осуществляется по уравнению (7) характеристических значений температуры для каждой зоны выращивания винограда.

$$T = t_{\text{ср}} + t_{\text{ср мин}} + t_{\text{ср макс}}, \quad (7)$$

где T – интегральный температурный индекс, $^{\circ}\text{C}$;

$t_{\text{ср}}$ – среднегодовая температура воздуха в соответствующей географической зоне выращивания винограда, $^{\circ}\text{C}$;

$t_{\text{ср мин}}$ - среднегодовая минимальная температура воздуха в соответствующей географической зоне выращивания винограда, $^{\circ}\text{C}$;

$t_{\text{ср макс}}$ - среднегодовая максимальная температура воздуха в соответствующей географической зоне выращивания винограда, $^{\circ}\text{C}$.

Использование базы температурных значений за 2016 г. (рисунки 1, 3, 4, 6), содержащий наибольший объем климатических данных, с включением сведений дополнительных станций метеонаблюдений позволило сформировать интегральные температурные индексы для четырех исследованных зон –

Краснодарского края, Ростовской области, Республики Дагестан и Крыма. Интегральные температурные индексы представлены в таблице 12.

Таблица 12 – Интегральные температурные индексы зон выращивания винограда

Температурная зона	Контроль климатических данных	Температура воздуха в 2016 г., °С			Интегральный температурный индекс Т, °С
		t _{ср}	t _{ср мин}	t _{ср макс}	
Краснодарский край	Темрюк	+12,6	+9,2	+16,5	+38,3
	Анапа	+13,4	+10,2	+17,2	+40,8
	Крымск	+12,3	+7,4	+18,0	+37,7
	Новороссийск	+14,4	+11,3	+18,2	+43,9
Ростовская область	Таганрог	+11,3	+8,0	+15,3	+34,6
	Миллерово	+9,1	+4,2	+14,5	+27,8
	Семикаракорск	+10,2	+4,7	+16,0	+30,9
	Цимлянск	+10,7	+6,9	+15,0	+32,6
Крым	Евпатория	+15,1	+11,2	+19,7	+46,0
	Севастополь	+15,3	+11,8	+19,0	+46,1
	Ялта	+16,4	+13,2	+20,0	+49,6
	Феодосия	+15,1	+11,5	+19,4	+46,0
Республика Дагестан	Ахты	+10,3	+5,4	+16,7	+32,4
	Касумкент	+11,7	+7,4	+17,9	+37,0
	Дербент	+14,0	+11,3	+17,5	+42,8
	Сергокала	+11,2	+7,5	+15,8	+34,5

На основе сведений о температурных условиях произрастания винограда предложена классификация географических зон, основанная на применении нового показателя – интегрального температурного индекса:

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

2.4 Методы и оборудование

2.4.1 Биохимические методы исследований - ферментативный анализ

Ферментативный анализ изучаемых образцов экспериментальных вин проводили согласно рекомендациям, приведенных в [35]. Для этих измерений были использованы ферментативные наборы реактивов фирмы «R-Biopharm AG» (Германия) и спектрофотометр марки «UV-1800» (США). В ходе исследований были получены результаты по показателям компонентного состава столовых сухих вин, изготовленных из винограда сезонов 2015-2017 гг.

В разработанную систему оценки качества винодельческой продукции были включены изучение специфичных и корреляционных показателей компонентного состава продукта для дальнейшего подтверждения их соответствия НД и базе научных знаний о количественных значениях данных показателей. Указанные ниже диапазоны значений были сформированы согласно нормативной документации и по результатам изучения базы научных знаний о количественных значениях показателей компонентного состава [19, 52, 193, 95].

Специфичные показатели:

- Этанол (8,5-15), % об.
- Глицерин (4-18), г/дм³
- Винная кислота (1-6), г/дм³
- Лимонная кислота (не более 1), г/дм³
- L-Яблочная кислота (не более 5), г/дм³
- D/L-Молочная кислота (не более 4,5), г/дм³

Корреляционные показатели:

- Суммарная концентрация D-глюкозы и D-фруктозы (не более 4), г/дм³
- Отношение между D-глюкозой и D-фруктозой (46-50:50-54), %
- Доля D-глюкозы в суммарной концентрации сахаров (46-50), %
- Глицериновый фактор (4,1-16,9), г/л (уравнение (8)):

$$\text{Глицериновый фактор} = \frac{\text{Глицерин} \times 100}{\text{Этанол}} \quad (8)$$

- Взаимосвязь между долей D-глюкозы и степенью сбраживания – согласно диаграмме, приведенной на рисунке 9 [193].
- Отношение между L-яблочной и L-молочной кислотами (не более 1).

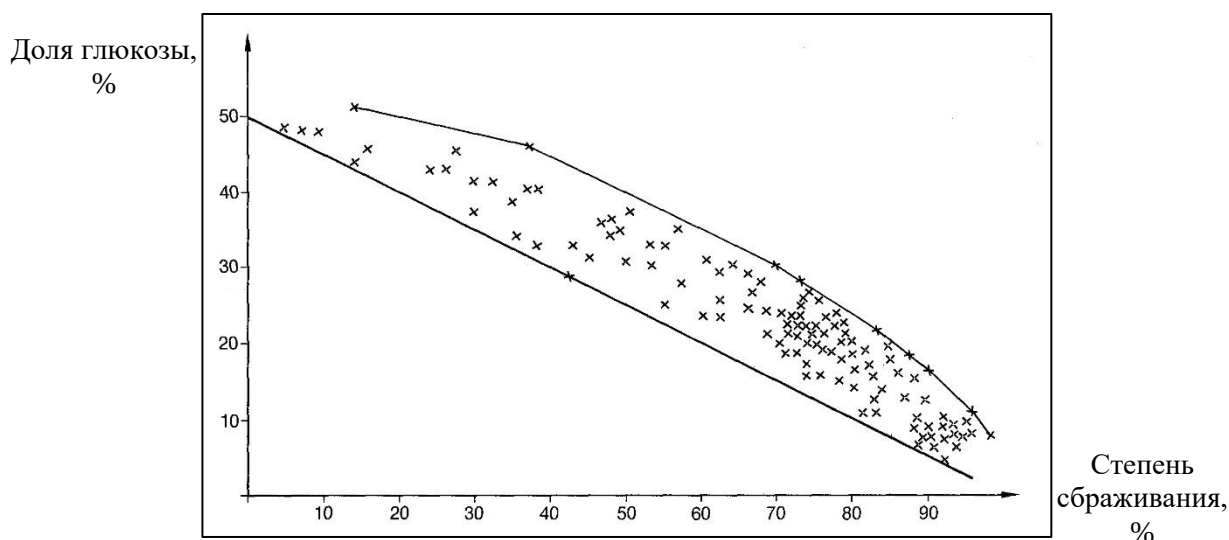


Рисунок 9 – Диаграмма области значений, характерных для натуральных вин, изготовленных без добавления сахара [193]

2.4.2 Масс-спектрометрический метод исследования изотопного состава углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (FC-IRMS/SIRA)

Исследование природы спиртов и/или сахаров винодельческой продукции невиноградного происхождения методом масс-спектрометрии требует проведения измерений отношений стабильных изотопов непосредственно в целевых компонентах – этиловом спирте и углеводах, что определяет необходимость планирования и осуществления обязательных лабораторных операций по выделению изучаемых компонентов из сусла, виноматериалов и/или вина.

2.4.2.1 Выделение этилового спирта из вина и виноматериалов

Выделение и очистку этилового спирта из вин и виноматериалов осуществляли с помощью дистилляции с учетом требований метода Международной организации винограда и вина (MOVB) - OIV-MA-AS312-06 [108]:

- дистилляция проводилась в контролируемом температурном режиме (интервал температуры отбора фракции составлял 78,0-78,2 °C), что обеспечивало получение этанола в азеотропной форме с необходимой крепостью и сбор фракции, свободной от сопутствующих летучих компонентов образца алкогольной продукции;
- выход этилового спирта из образца вина составлял не менее 95-96 %;
- крепость полученного этанола составляла не менее 95 % об. (92-93 % масс.).

Для получения проб этилового спирта использовали не менее 500 мл каждого образца вина или виноматериала. Далее включали нагрев пробы, помещенную в круглодонную колбу. Первая фракция дистиллята отбрасывалась, отбор нужной фракции («средней») производился при вышеуказанной температуре и прекращали сбор при повышении температуры более чем на 0,2 °C, когда температура возвращалась к 78,0 °C, дальше возобновляли сбор дистиллята, пока температура паров снова не увеличивалась. До проведения изотопных измерений на аналитическом комплексе пробы этанола хранили в стеклянных пробирках при температуре минус 20 °C. Дистилляцию проводили на лабораторной установке, принципиальная схема которой приведена на рисунке 10. Установка включала: 1 - электрический колбонагреватель с возможностью плавного регулирования и контроля температурного режима модель «LOIP LH-110» (Россия); 2 - круглодонную колбу вместимостью 1000 мл; 3 - дефлегматор елочного типа с эффективной высотой разделяющей поверхности 600 мм (Чехия); 4 - каплеуловитель КП-14/23 (Россия); 5 - электронный контролер температуры

отбора фракций «Technoterm 1100» (Германия); 6 - стеклянный прямой холодильник Либиха «ХПТ-1-300» (Россия) для охлаждения; 7 – коллектор фракций и стеклянные переходники для обеспечения герметичных соединений отдельных частей лабораторной установки. Особенностью лабораторной установки являлось применение дефлегматора с увеличенной высотой разделяющей поверхности и каплеуловителя, которые обеспечивали высокий коэффициент и скорость выделения спирта.

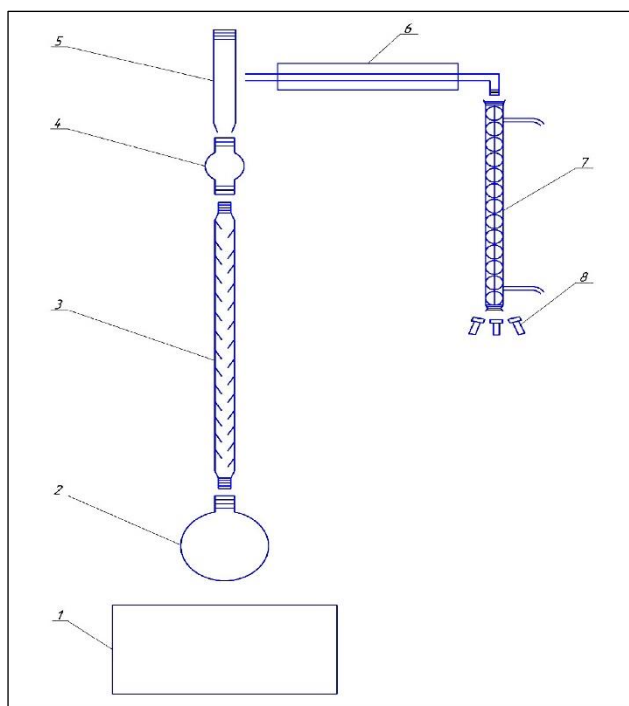


Рисунок 10 - Принципиальная схема лабораторной установки для
дистилляции

2.4.2.2 Выделение и очистка углеводов (сахаров) винограда, вина и виноматериалов

В отличие от процесса дистилляции, который основан на физическом принципе разделения многокомпонентных смесей веществ с разными температурами кипения, подготовку проб углеводов (сахаров), включающую их выделение и очистку, проводили физико-химическим методом согласно

нижеприведенным методам А и Б, исключаящих изотопное перераспределение и загрязнение пробы. Методы выделения и очистки впервые разработаны для применения в исследовании винодельческой продукции. Разработка методов осуществлена путем экспериментальной модификации способа подготовки соков, описанного в ГОСТ 31714-2012 «Соки и соковая продукция. Идентификация. Определение стабильных изотопов углерода методом масс-спектрометрии» [18]. Приведенные методы позволяют получать в виде комплексного препарата не менее 95 % углеводов, содержащихся в продуктах растительного происхождения.

Метод А: В пробирку для центрифугирования вместимостью 100 мл с помощью мерного цилиндра 50 мл виноградного сусла. После центрифугирования в пробирку при постоянном перемешивании вносили 10 г сухого хлорида кальция CaCl_2 до полного растворения хлорида кальция. Далее в пробирку вносили 0,5 г сухого гидроксида кальция $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Пробу нагревали на водяной бане при температуре 90 °С в течение трех минут при постоянном перемешивании стеклянной палочкой, после центрифугировали пробу в горячем состоянии 10 минут при 8000 об/мин. Надосадочную жидкость отделяли от осадка и помещали в химический стакан вместимостью 100 мл, охлаждали при комнатной температуре и с помощью 1 М H_2SO_4 корректировали значения рН до значения 5,0. Подкисленную надосадочную жидкость помещали в холодильник и выдерживали в течение не менее 15 часов при температуре плюс 4 °С. После холодной выдержки надосадочную жидкость отделяли от образовавшегося осадка и подвергали лиофильному высушиванию (объем пробы не более 5 мл) в вакууме (0,05 мбар) при температуре минус 50 °С в течение 24 часов (рисунок 11). Готовые препараты переносили в сухие емкости (пробирки) и до проведения изотопных измерений хранили пробы при температуре не выше минус 20 °С. Важным условием, обеспечивающим отсутствие изотопного фракционирования, являлось предотвращение контакта пробы с воздухом, который приводит к фиксации в пробе углерода из атмосферного углекислого газа, что в свою очередь

может повлиять на результаты измерения состава изотопов углерода в сахарах пробы.



Рисунок 11 - Установка «Labconco®» (США) для лиофильного высушивания органических проб

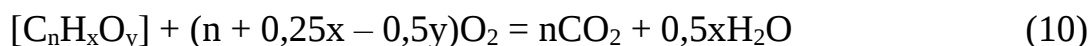
Метод Б: Данный метод использовали для получения препаратов углеводов из вина или виноматериала. Основные операции выделения и очистки совпадают с *методом А* за исключением операции тепловой обработки пробы в водяной бане. В связи с тем, что состав стабильных изотопов углерода глицерина вина и виноматериала характеризуется пониженным по сравнению с сахарами количественным уровнем показателя $\delta^{13}\text{C}$. В случае присутствия значительных количеств глицерина в выделенном препарате сахаров, показатель $\delta^{13}\text{C}$ последних будет принимать низкие значения, что может оказать определенное влияние на результат измерения. Во избежание такого влияния на конечный результат измерений *метод Б* выделения углеводов из образца алкогольной продукции был дополнен внесением прокаленного до рыжего цвета оксид свинца в пробирку для центрифугирования после ее помещения в водяную баню на 3 минуты при температуре 90 °С, что приводило к преобразованию глицерина вина или виноматериала в комплексное нерастворимое соединение со свинцом с дальнейшим его выпадением в осадок согласно уравнению (9):



Готовые лиофильно высушенные препараты углеводов вина или виноматериалов переносили в герметичные пробирки и также хранили в холодильнике при температуре не выше минус 20 °С.

2.4.2.3 Измерение отношений стабильных изотопов углерода в углеводах (сахарах) и этаноле

Изучение отношений стабильных изотопов углерода в сахарах в составе комплексных препаратов, выделенных и очищенных из исходных образцов сусла, вина или виноматериалов и этилового спирта, выделенного дистилляцией, проводили с использованием метода окислительно-восстановительного преобразования («мгновенное сжигание»/«flash combustion») органической пробы в элементарные газы, схема которой представлена на рисунке 12 (Thermo Fisher Scientific, США) [145], где 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. Согласно общему уравнению горения (10) в условиях сверхвысоких температур (≥ 1000 °С) и в присутствии как связанного, так и свободного молекулярного кислорода, углерод, содержащийся в сложном органическом веществе, практически полностью встраивается в структуру молекул газообразного диоксида углерода, образующегося в ходе окислительно-восстановительной реакции [79-80, 177].



Изотопы углерода ^{13}C и ^{12}C , входящие в состав органической пробы, преобразуемой в ходе окислительно-восстановительного процесса, определяют состав изотопомеров диоксида углерода, образующиеся при сжигании пробы. Таким образом, измерение молекул углекислого газа с массами 44 и 46 позволяет

осуществить количественное определение изотопов углерода и рассчитать значение величины $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$, характеризующей отношение изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в измеряемом образце.

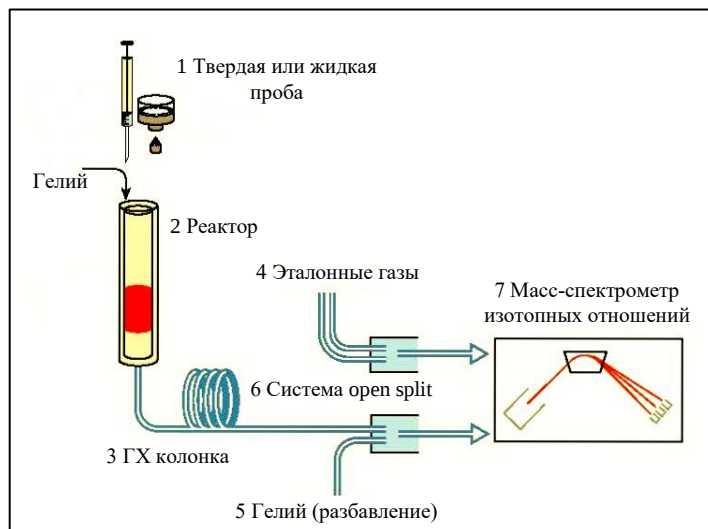


Рисунок 12 - Конструктивная схема оборудования для окислительно-восстановительного преобразования (FC-IRMS/SIRA) [145]

Для проведения исследований были использованы приборы, входящие в состав аналитического комплекса компании Thermo Fisher Scientific (США/Германия), представленные на рисунке 13:

- прибор для преобразования органического вещества (подготовленные пробы) в элементарные газы (модель «Flash EA1112®») – элементный анализатор, оснащенный двумя типами реакторов для окислительно-восстановительного преобразования, хроматографической колонкой для очистки получаемых газов, а также системой для удаления воды;
- автоматический податчик для ввода твердых проб в реакторы элементного анализатора и мембранная насадка для ручного ввода жидких проб в реакторы элементного анализатора;
- прибор для управления газовыми потоками и дозирования элементарных газов в масс-спектрометр (модель «Finnigan Conflo III®»);

- масс-спектрометр специальной конструкции, предназначенный для измерения отношений стабильных изотопов легких элементов в изотопомерах элементарных газов (модель «Delta V Advantage[®]»);
- компьютерная рабочая станция «Dell Optiplex 745[®]» с программным обеспечением высокого уровня «Isodat NT 2.5[®]» для подготовки и контроля измерения, регистрации данных и расчета конечных результатов;
- инфраструктурное оборудование для стабильного снабжения аналитического комплекса рабочими газами высокой степени очистки.

Подготовку комплекса к измерениям проводили в соответствии с требованиями изготовителя оборудования. Измерения осуществляли согласно техническим особенностям приборов и указаниям по их использованию, приведенным в эксплуатационной документации [177]. При исследовании состава стабильных изотопов углерода использовали газ-носитель – гелий (99,9999 %, ОАО «Линде Газ Рус», Россия), рабочий газ - диоксид углерода высокой степени очистки (не менее 99,999 %, ОАО «Линде Газ Рус», Россия), а также для обеспечения полноты окислительно-восстановительной трансформации углерода вспомогательный газ - кислород высокой степени очистки (не менее 99,999 %, ОАО «Линде Газ Рус», Россия).



Рисунок 13 - Аналитический комплекс по изучению соотношений стабильных изотопов легких элементов в растительных объектах окружающей среды (Thermo Fisher Scientific)

Рабочий газ (CO_2) калибровали с помощью образцов сравнения (стандартные вещества международного качества, которые в части состава стабильных изотопов имеют сродство с изучаемым объектом). В качестве образца сравнения при проведении исследования состава стабильных изотопов углерода в этаноле и сахарах, выделенных из винодельческой продукции, использовали международный стандартный образец (МСО) с известным составом изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ – сахарозу с обозначением по каталогу Международного агентства по атомной энергии (МАГАТЭ) – IAEA-CH6 «Sucrose», значение показателя $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ = минус 10,449 ‰, измеренное относительно международного стандартного образца сравнения – мрамора «VPDB» («Vienna Pee Dee Belemnite»). Данный стандартный образец представляет собой ископаемый карбонат кальция из окаменелости *Belemnitella americana* мелового возраста (залежи находятся в США, штат Каролина). Знак «минус» указывает на то, что исследуемый объект обеднен «тяжелым» изотопом ^{13}C по сравнению с международным стандартным образцом.

Перед проведением непосредственно измерений изотопов углерода в углеводах (сахарах) навески препаратов, которые содержали от 40 до 100 нг (в среднем 60 нг) углерода, помещали в оловянные капсулы размером 3,3×5 мм. Капсулу с навеской пробы тщательно закрывали с помощью микропинцета, исключая тем самым контакт пробы с атмосферным воздухом. Далее капсулы в трех повторностях для каждой пробы размещали в автоподатчик проб, установленного над окислительно-восстановительным реактором элементного анализатора «Flash EA1112®». Также с навесками проб углеводов в ячейки автоподатчика загружали капсулы с навесками IAEA-CH6 «Sucrose» для контроля достоверности измерения. Подготовленные пробы очищенного этанола вводили непосредственно в реактор элементного анализатора с помощью микрошприца (Scientific Glass Engineering PTY.LTO, Australia) в объеме 0,10 мкл.

Условия проведения исследований изотопного состава углерода в приготовленных пробах соответствовали оптимальным режимам, определенным в

ходе предварительных исследований. Сжигание проб углеводов и этанола проводили в потоке инертного газа гелия (скорость потока 100 мл/мин) в окислительно-восстановительном реакторах элементного анализатора при температурах: 950 °С – окислительный реактор, 650 °С – восстановительный реактор в присутствии молекулярного кислорода высокой степени очистки со скоростью потока 250 мл/мин. Разделение элементарных газов, образующихся при мгновенном сжигании вещества в реакторах, осуществляли в автоматическом режиме на хроматографической колонке элементного анализатора. Содержащаяся в пробе и образующаяся при сжигании вода удалялась с помощью ловушки, заполненной перхлоратом магния. Очищенная смесь газов направлялась в прибор управления газовыми потоками «Finnigan Conflo III®», затем поступала в масс-спектрометр «Delta V Advantage®» для измерения изотопомеров диоксида углерода CO₂, регистрации и расчета конечных результатов. Значение ускоряющего напряжения масс-спектрометра составляло 3,07 кВ, рабочее давление в ионном источнике – $1,4 \times 10^{-6}$ кПа. Генерация ионизированных молекул диоксида углерода осуществлялась способом электронного удара (уровень энергии электронов составлял 124 эВ). Масс-спектрометр «Delta V Advantage®» оснащен пятью детекторами – ионными ловушками («чашки Фарадея»), три из которых осуществляли одновременный непрерывный мониторинг сигнала [CO₂]⁺ для трех основных ионов с массами 44 (¹²C¹⁶O¹⁶O), 45 (¹³C¹⁶O¹⁶O и ¹²C¹⁷O¹⁶O) и 46 (¹²C¹⁶O¹⁸O). Для обеспечения значимого уровня сигнала резисторы отклика были настроены на значения 3×10^8 , 3×10^{10} , 1×10^{11} Ом для масс 44, 45, 46 соответственно. В начале каждого измерения в масс-спектрометр подавались по три объема рабочего стандартного образца CO₂.

Контроль и расчет результатов измерения проводили через специализированную компьютерную рабочую станцию «Dell Optiplex 745®» и программного обеспечения высокого уровня – «Isodat NT 2.5®», позволяющий проводить дистанционную настройку и контроль работы оборудования, регистрацию всех измеряемых параметров, а также полную обработку

результатов, включая статистический анализ. Типичный графический и цифровой модуль регистрации и обработки полученных данных одной пробы представлен на рисунке 14.

Результат измерения выражали виде величины δ (дельта), имеющую размерность в промилле (‰) и представляли до второго десятичного знака с указанием расширенного значения неопределенности (погрешности) (U) измерения с использованием соответствующих значений относительного стандартного отклонения серии измерений (RSD), коэффициента охвата $k = 2$ при уровне доверительной вероятности $P = 95 \%$ согласно рекомендациям, опубликованным в [192].

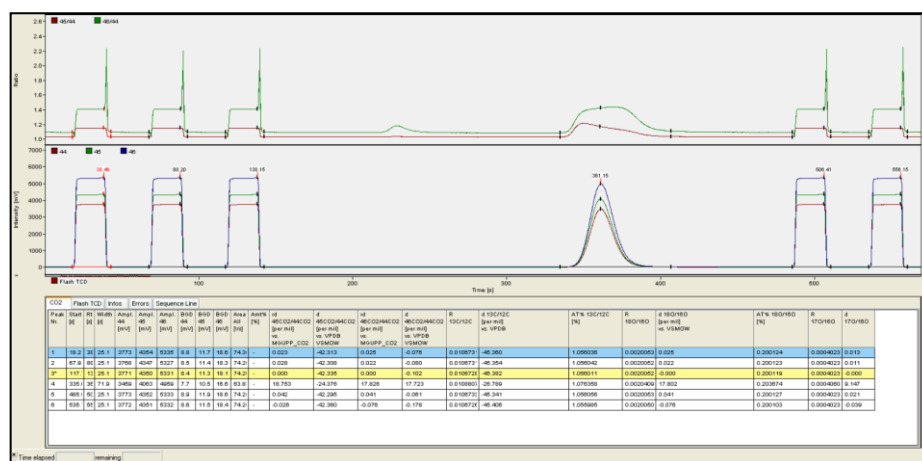


Рисунок 14 - Типичный графический и цифровой модуль регистрации и обработки данных («Isodat NT 2.5[®]»)

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

Исследования винограда (суслы) и винодельческой продукции проводили без предварительного выделения целевого компонента – воды из матрицы на аналитическом комплексе для масс-спектрометрических измерений (рисунок 15) с помощью метода изотопного уравнивания (обмена), состоящего из:

- системы подготовки проб к исследованию (компания Thermo Fisher Scientific, США/Германия), включавшую термостатируемый штатив, автоматический подачик проб модель «GC PAL[®]» (компания CTC Analytics AG, Швейцария) с роботизированным манипулятором с универсальным двухпортовым игольчатым рабочим органом для подачи продувочной газовой смеси, отбора объемов газовой фазы и ее подачи в сплит-систему и прецизионного регулятора температуры;
- прибора очистки и подачи проб «Gasbench II[®]» (компания Thermo Fisher Scientific, США/Германия), состоящего из диффузионной системы удаления воды из пробы на основе мембран «Nafion[®]», изотермического газового хроматографа, системы инъекции проб, активного интерфейса для деления газовых потоков и системы инъекции газов, используемых в качестве рабочих стандартов;
- системы подачи газов высокой степени очистки «Сигма-Плюс» (Россия);
- масс-спектрометра «Delta V Advantage[®]» (компания Thermo Fisher Scientific, США/Германия);
- специализированной рабочей станции «Optiplex 960[®]» (компания Dell, США) для регистрации и обработки экспериментальных данных на основе программного пакета высокого уровня «Isodat NT 3.0[®]».

В качестве рабочего стандартного образца (PCO) применяли диоксид углерода (CO₂) высокой степени очистки 99,999 %, а также гелий («продувочный» газ) высокой степени очистки 99,9999 %, содержащий 0,4 % высокоочищенного диоксида углерода (99,999 %) и газ-носитель – гелий высокой степени очистки (99,9999 %).

В данной серии исследований были использованы также международные стандартные образцы воды с известным составом изотопов кислорода ¹⁸O/¹⁶O:

- международный стандартный образец среднеокеанической воды «VSMOW2» (Vienna Standard Mean Ocean Water 2, $\delta^{18}\text{O} = 0,00 \text{ ‰}$, МАГАТЭ, Австрия);

- международный стандартный образец водных осадков ледяного покрова Гренландии «GISP» (Greenland Ice Sheet Precipitation, $\delta^{18}\text{O} = -24,76 \text{ ‰}$, МАГАТЭ, Австрия);
- международный стандартный образец легких водных осадков Антарктики «SLAP2» (Standard Light Antarctic Precipitation 2, $\delta^{18}\text{O} = -55,50 \text{ ‰}$, МАГАТЭ, Австрия).

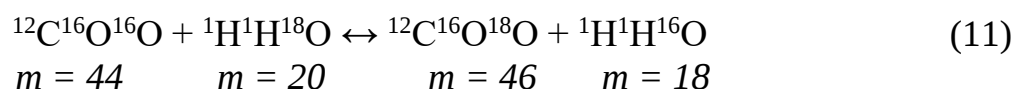


Рисунок 15 - Аналитический комплекс по изучению отношений стабильных изотопов кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в водной фракции объектов растительного происхождения методом изотопного уравнивания

2.4.3.1 Принцип изотопного уравнивания

Метод изотопного уравнивания (EQ-IRMS/SIRA) основан на физических процессах термодинамического фракционирования стабильных изотопов в природных системах. В природе постоянный обмен изотопами кислорода проходит между газовой и жидкой фазами в процессе испарения воды. Интенсивность обмена является функцией времени, температуры и числа участвующих элементов. В закрытых системах с течением времени интенсивность обмена снижается до наступления определенного равновесного состояния, в котором скорости перехода изотопов одного элемента из жидкой в газовую фазу и обратно равны, такое состояние можно назвать изотопным равновесием системы. Методология, используемая для подготовки проб к

изучению изотопов кислорода, которая основана на данном физическом явлении, получила название «изотопное уравнивание системы» [178, 43, 40, 143, 101]. Изотопный обмен до наступления равновесного состояния для закрытых систем, контролируемых по составу газовой фазы, длительности процесса и температуре, может быть представлен в виде следующего общего уравнения (11):



Согласно общему уравнению, изотопный обмен происходит между молекулами углекислого газа, которые содержатся в закрытом объеме контролируемой газовой среды и молекулами воды, в том числе молекулами воды, входящей в состав исследуемого жидкого объекта. Так, например, в закрытой системе один атом кислорода с атомной массой 16 из молекулы углекислого газа с массой 44 при взаимодействии в газовой фазе с молекулами воды замещается на один атом кислорода с атомной массой 18 с увеличением массы молекулы углекислого газа до 46 единиц. Измерение молекул углекислого газа с массами 44 и 46 позволяет определить количество изотопов кислорода ^{18}O и ^{16}O и соответственно рассчитать значение показателя $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$ для исследуемой пробы [178, 40, 115].

2.4.3.2 Подготовка проб

Для проведения измерений изотопного состава кислорода предварительно формировалась серия проб, в которую входили необходимое количество пробирок (по три повторности каждого образца) из боросиликатного стекла (внутренний объем 12 см³) с внесенными пробами сусли, вина или виноматериала объемом 0,5 см³ и международные стандартные образцы воды - VSMOW2, GISP, SLAP2 в количестве 0,2 см³ каждый. Каждую пробирку герметично укупоривали одноразовой винтовой пробкой с тефлон-силиконовой мембраной.

Дополнительно в каждую серию исследований включали пустую закупоренную пробирку для контроля газовой смеси, используемой для замены воздушной атмосферы.

Серию пробирок размещали в ячейках термостатируемого штатива прибора для подготовки проб (рисунок 16), в первых и последних ячейках штатива размещали пробирки с МСО для контроля дрейфа получаемых показаний. Для проведения реакции изотопного уравнивания воздушную атмосферу внутри пробирок заменяли инертным газом – гелием, содержащим 0,4 % диоксида углерода. Скорость потока газовой смеси до полного вытеснения атмосферного воздуха и создания контролируемой газовой среды в каждой пробирке составила 115-120 см³/мин при длительности замены 10 минут. При этом оптимальная температура для изотопного уравнивания составила: плюс $24,0 \pm 0,1$ °C при выдержке не менее 18 часов.

Температурный фактор является одним из основных факторов влияния на результат изотопного обмена. Для обеспечения стабильности температурного режима на протяжении всей реакции важным требованием является активное поддержание установленного уровня температуры, которое достигается не только применением прецизионных устройств, но и регулируемым понижением и сохранением температуры в помещении, в котором размещено аналитическое оборудование на 5-10 °C ниже температуры реакции изотопного обмена [178].



Рисунок 16 - Термостатируемый штатив для проведения реакции изотопного уравнивания в исследуемых пробах

2.4.3.3 Измерение отношений изотопов кислорода

После завершения реакции изотопного обмена далее происходил отбор из газовой фазы каждой пробирки определенного объема газовой смеси, подаваемой в универсальный прибор «Gasbench II®» для ее последующей газохроматографической очистки (рисунок 17), отделения воды и управления газовыми потоками. Газовую смесь, содержащую углекислый газ с равновесным изотопным составом атомов кислорода, подвергают первичной очистке с целью удаления молекул воды с помощью диффузионной системы на основе молекулярного мембранного сита «Nafion®», после чего смесь переходит в систему газового хроматографа для выделения углекислого газа. Хроматографическое разделение газовых фракций происходило в потоке гелия (скорость подачи 2 мл/мин) на колонке типа «PLOT Fused Silica®» с неподвижной фазой марки «CP-Pora PLOT Q®», длиной 25 м и диаметром 0,32 мм (Varian, США). Хроматографическое разделение газов осуществлялось при температуре плюс 70 °С, в то время как температурный режим для проб в штативе до окончания исследований поддерживался на уровне плюс 24 °С ($\pm 0,1$ °С). Универсальный прибор «Gasbench II®» в процессе одного цикла позволяет осуществить многократную подачу газовой смеси из системы инъекции в хроматограф в процессе одного цикла измерения. Одна инъекция газовой смеси означает одно хроматографическое разделение, что соответствует одному измерению количественного соотношения изотопов кислорода ^{18}O и ^{16}O в масс-спектрометре «Delta V Advantage®». Перед подачей очищенных объемов углекислого газа в масс-спектрометр их подвергают дополнительной обработке в диффузионной системе «Nafion®» для удаления возможного загрязнения газовой фракции молекулами воды. Для количественного измерения состава изотопов кислорода подготовленные объемы углекислого газа направляют в масс-спектрометр, где значение ускоряющего напряжения составляло 3,07 кВ, а рабочее давление в ионном источнике – $1,2 \times 10^{-7}$ кПа. В начале каждого

измерительного цикла в масс-спектрометр подавали по пять объемов рабочего стандартного образца.



Рисунок 17 - Прибор «Gasbench II®» (Thermo Fisher Scientific)

Регистрацию и обработку результатов измерений, а также управление всеми приборами аналитического комплекса осуществляли с помощью рабочей станции «Dell Optiplex 960®» и программного пакета высокого уровня «Isodat NT 3.0®». Общая схема основных этапов исследования изотопов кислорода в жидких продуктах методом изотопного уравнивания представлена на рисунке 18 (Thermo Fisher Scientific, США) [178], где 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.

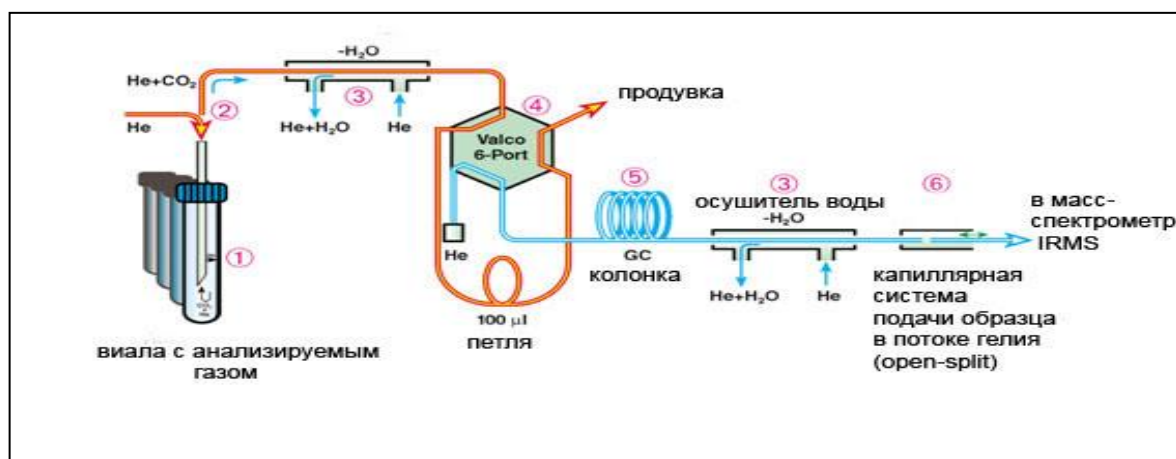


Рисунок 18 - Конструктивная схема оборудования для проведения измерения методом изотопного уравнивания [178]

2.4.3.4 Расчет результатов

Одним из основных теоретических аспектов применения метода EQ-IRMS/SIRA является оценка массового баланса протекающих процессов и расчет числа компонентов, участвующих в данных реакциях. В методологии изотопного уравнивания имеют значение объем газа и в особенности количество пробы образца, содержащей воду, так как окончательный результат работы – показатель $\delta^{18}\text{O}$ зависит от состава изучаемых изотопов газа и пробы.

В исследованиях применяли пробы, содержащие воду и газы высокой степени очистки. Известно, что 1 М воды эквивалентен объему 18 см^3 , а 1 М идеального газа – $22,4 \text{ дм}^3$. Объем пробирок, в которых протекала реакция изотопного уравнивания, составляла 12 см^3 , этот объем эквивалентен $0,0005357 \text{ М}$ идеального газа. Под идеальным газом мы рассматривали гелий, содержащий $0,4 \%$ газообразного диоксида углерода. Таким образом, количество газообразного диоксида углерода в объеме пробирки 12 см^3 составлял $0,000002679 \text{ М}$. Объем воды, равный, например, 1 см^3 , соответствует $1/18 \text{ М}$. При использовании данного объема концентрация атомов кислорода в водной фазе пробы в 10000 раз превышает концентрацию атомов кислорода в газовой фазе. Данного количества будет достаточно для инициирования и поддержания

скорости реакции изотопного обмена вплоть до равновесного состояния, которое в конечном итоге обеспечивало эквивалентность изотопного состава жидкой и газовой фаз. Из этого следует, что в реакции изотопного обмена для реализации которой может использоваться 1 см³ пробы или в частности от 0,2 см³ (в случае чистой воды) до 0,5 см³ (в случае любого жидкого объекта - сусло, вино/виноматериал), расчет массового баланса не является обязательным [178, 143].

Результаты измерений отношений стабильных изотопов кислорода выражали в виде величины $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$ в промилле (‰). В основе расчета лежит следующее уравнение (12):

$$\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}} = [({}^{18}\text{O}/{}^{16}\text{O})_1 - ({}^{18}\text{O}/{}^{16}\text{O})_2 / ({}^{18}\text{O}/{}^{16}\text{O})_2] \times 1000, \quad (12)$$

где $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$ – полученное значение изотопа кислорода, ‰;

$({}^{18}\text{O}/{}^{16}\text{O})_1$ – соотношение изотопов кислорода в пробе, ‰;

$({}^{18}\text{O}/{}^{16}\text{O})_2$ – соотношение изотопов кислорода в стандартном образце, ‰.

Измерения образцов проводили не менее чем в трех повторностях, при этом учитывали результаты трех измерений, зарегистрированных в пиках №№ 12-14 модуля экспериментальных данных (рисунок 19).

Для каждой серии рассчитывали уровень погрешности (неопределенности) измерений (U) с использованием соответствующих значений относительного стандартного отклонения серии измерений (RSD), коэффициента охвата $k = 2$ при уровне доверительной вероятности $P = 95 \%$ с учетом рекомендаций, опубликованных в [192].

В расчете использовали измеренные значения интенсивности сигналов молекул углекислого газа с массами 44 и 46. Для контроля правильности результатов проводилась одновременная коррекция значений интенсивности сигнала для исключения возможного влияния изобаров $^{12}\text{C}^{17}\text{O}^{17}\text{O}$ и $^{13}\text{C}^{17}\text{O}^{16}\text{O}$, доля которых определяется по активности сигнала по массе 45 с учетом степени распределения изотопов ^{17}O и ^{13}C в природе (0,0375 % и 1,11 % соответственно).

С учетом особенностей метода изотопного уравнивания значения $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$, рассчитанные по результатам зарегистрированных сигналов по массам 44 и 46, подвергали дополнительной корректировке, т.н. «нормализации». Для этого составили линейную зависимость между значениями показателя $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$ используемых МСО (GISP, SLAP2, VSMOW2), которые установлены в МАГАТЭ и значениями, измеренными для указанных МСО в каждой серии измерений. Нормализованные значения $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$ для измеряемых проб рассчитывались по уравнению линейной регрессии для соответствующей серии измерений и применяли для интерпретации результатов.

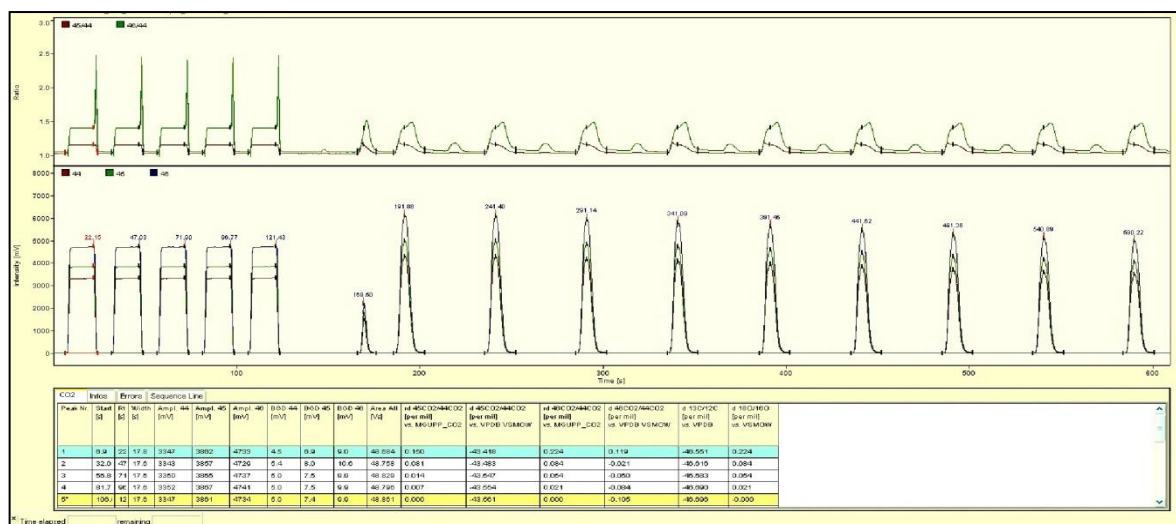


Рисунок 19 – Типичный графический и цифровой модуль регистрации и обработки данных при измерениях изотопии кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ методом изотопного уравнивания («Isodat NT 3.0[®]»)

2.4.4 Газо-хромато-масс-спектрометрический метод исследования состава углерода в летучих органических соединениях (GC-IRMS/SIRA)

В рамках программы исследований был разработан и апробирован газо-хромато-масс-спектрометрический метод исследования изотопии углерода в летучих органических соединениях с использованием аналитического комплекса

по измерению соотношений стабильных изотопов, в состав которого входят следующие специальные приборы:

- газовый хроматограф модель «Trace GC Ultra®» (Thermo Scientific, США/Германия) с капиллярной колонкой длиной 30 м, автоматическим податчиком жидких проб «TriPlus AS®» (Thermo Scientific, США/Германия) и встроенным окислительным микрореактором;
- сплит-система «GC Combustion®» (Thermo Scientific, США/Германия) со встроенным восстановительным микрореактором;
- масс-спектрометр «Delta V Advantage®» (Thermo Scientific, США/Германия) для измерения отношений стабильных изотопов легких элементов;
- инфраструктурное оборудование «Сигм-Плюс» (Россия) для снабжения аналитического комплекса рабочими газами высокой степени очистки (99,999 %), включая газ-носитель – гелий, рабочий стандартный газ – диоксид углерода, вспомогательный газ – кислород;
- для калибровки рабочего газа (диоксида углерода) в качестве стандартного образца был использован образец сравнения – 96 % об. этанол виноградного происхождения BCR-656, значение показателя $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ которого составляет минус $26,91 \pm 0,07$ ‰ (European Commission, Community Bureau of Reference BCR, индивидуальный идентификационный номер образца 00425).

Нормализация исходных образцов винодельческой продукции проводилась путем их разбавления дистиллированной водой до единой концентрации этанола (около 1 % об.) с дальнейшей микрофильтрацией через мембранный фильтр из гидрофильного политетрафторэтилена с размером пор 0,45 мкм. В стандартные стеклянные виалы для хроматографии после фильтрации в объеме примерно 1,5 мл вносили образец. Виалы размещали в держателе автоподатчика жидких проб на газовом хроматографе. Хроматографическое выделение этанола проводили в соответствии со следующими условиями: температура инжектора – 250 °C;

скорость потока газа-носителя через колонку – 1 мл/мин; объем пробы, вводимый автоматически в инжектор – 0,1 мкл; температурная программа колонки: начальный участок – 35 °С (выдержка 2 минуты), подъем температуры до 45 °С со скоростью 10 °С/мин, подъем температуры до 220 °С со скоростью 100 °С/мин, конечный участок нагрева – 220 °С (выдержка 2 минуты). Длительность хроматографического этапа составляла 7 минут, при этом фракция этанола подавалась в окислительный реактор на 5 минуте после инъекции пробы в колонку хроматографа. Время окислительно-восстановительного преобразования, измерения и регистрации результатов составляла не более 6 минут, а для восстановления настроек газового хроматографа до начальных значений требовалось 4 минуты. В общей сложности для одного измерения пробы с помощью метода GC-IRMS/SIRA требовалось 17 минут. Фракция чистого этанола после выхода из хроматографической колонки автоматически подавалась в микрореактор хроматографа для окислительного преобразования при температуре 940 °С. Далее полученные продукты окисления направлялись в восстановительный реактор, который имеет температуру 650 °С. Из восстановительного реактора выходила газовая смесь, содержащая изотопмеры диоксида углерода. Из газовой смеси удалялись молекулы воды с помощью диффузионной системы на основе молекулярного сита «Nafion®». Для измерения состава изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в изотопомерах углекислого газа соответствующий объем газа направлялся в масс-спектрометр «Delta V Advantage®». В начале каждого измерительного цикла в масс-спектрометр подавались по три импульса рабочего газа – чистого диоксида углерода. Регистрация и обработка полученных значений, а также управление всеми приборами аналитического изотопного комплекса осуществляли через специализированную компьютерную рабочую станцию «Dell Optiplex 745®» и программный пакет высокого уровня «Isodat NT 2.5®». Полученный типичный цифровой и графический модуль регистрации и обработки данных измерения одного образца винодельческой продукции показан на рисунке 20.

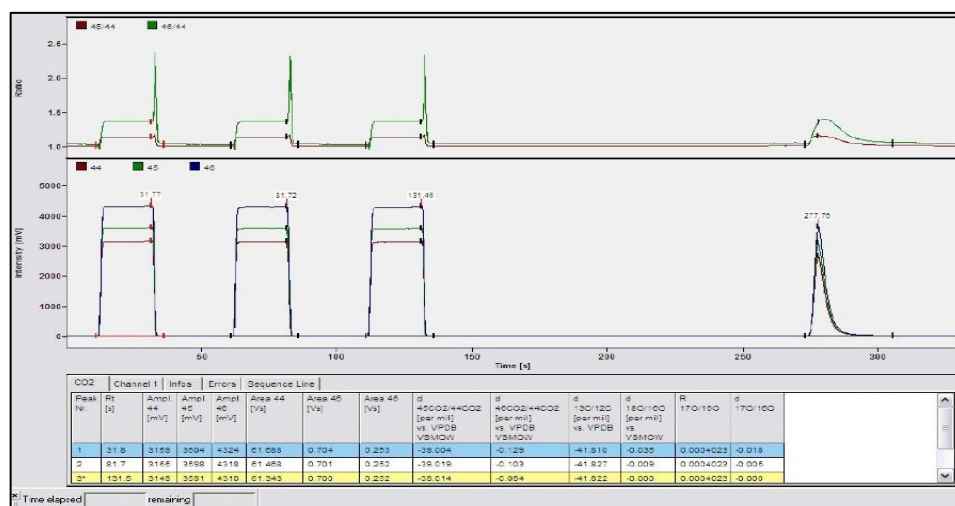


Рисунок 20 – Типичный графический и цифровой модуль регистрации и обработки данных при измерении состава стабильных изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в этаноле винодельческой продукции методом GC-IRMS/SIRA («Isodat NT 2.5[®]»)

Результаты исследований отношений стабильных изотопов углерода выражали также в виде величины $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ (‰). В расчете использовали измеренные значения интенсивности сигналов молекул углекислого газа с массами 44 и 46. Измерения проводили не менее чем в трех повторностях. Для каждой серии измерений рассчитывали расширенное значение неопределенности/погрешности (U) с использованием соответствующих значений относительного стандартного отклонения серии измерений (RSD), коэффициента охвата $k = 2$ при уровне доверительной вероятности $P = 95\%$ согласно рекомендациям, опубликованных в [192].

Сравнительные исследования показали, что результаты измерений показателя $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ в этаноле газо-хромато-масс-спектрометрическим методом эквивалентны результатам, которые получены при реализации метода IRMS/SIRA с использованием элементного анализатора «Flash EA1112[®]».

После проведения измерений проб винодельческой продукции с помощью метода GC-IRMS/SIRA были подтверждены ряд его достоинств [49, 112]:

- отсутствие необходимости проведения дистилляции как дополнительной операции;
- простая подготовка изучаемых образцов к исследованиям;
- отсутствие риска изотопного фракционирования и/или загрязнения пробы в ходе ее подготовки к измерению, что обеспечивает высокий уровень достоверности полученных результатов;
- высокая чувствительность измерений при введении сверхмалых объемов проб;
- высокая производительность метода в связи с низкими общими затратами времени на анализ;
- возможность использования специальных хроматографических колонок для анализа изотопного состава и других продуктов брожения;
- универсальность применения, позволяющий в дальнейшем внедрить данный метод в исследования летучих соединений других объектов растительного происхождения.

Данный метод особенно становится актуальным в сфере оценки качества винодельческой и другой алкогольной продукции, выявления манипуляций с ее составом. Преимущества разработанного метода GC-IRMS/SIRA позволяет использовать его для валидации метода исследования изотопии углерода в этаноле с применением элементного анализатора (метод FC-IRMS/SIRA).

Глава 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Результаты исследований состава стабильных изотопов в компонентах винограда, вин и виноматериалов

В разделе диссертационной работы представлены полученные количественные данные о природном фракционировании стабильных изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в исследованных компонентах винограда (сусла) и винодельческой продукции. В таблицах приведены средние арифметические значения ($\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ и $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$) серии измерений, где U – погрешность измерений. Номера образцов экспериментальных вин соответствуют номерам образцов исследованных проб винограда.

3.1.1 Виноград и вино Краснодарского края

Сезон 2016 года

В таблице 13 представлены результаты исследований изотопного состава $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ углерода в углеводах (общем сахаре), а также состава изотопов кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ во внутриклеточной воде винограда сортов Каберне Совиньон и Шардоне, образцы которых были отобраны в 2016 году в ходе сбора урожая в четырех районах Краснодарского края.

Таблица 13 - Изотопный состав углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в компонентах винограда урожая 2016 г. (образцы №№ 1-9 – Каберне Совиньон, №№ 10-18 – Шардоне)

№ пп	Виноградарское и винодельческое хозяйство	Географи- ческий район	Состав изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в углеводах		Состав изотопов кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ во внутриклеточной воде	
			$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}, \text{‰}$	$\pm U, \text{‰}$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}, \text{‰}$	$\pm U, \text{‰}$
1	ООО «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 район	-24,60	0,10	-0,83	0,14
6	ТВК «Кубань»		-21,54	0,23	-2,11	0,18
7	АФ «Победа» (ЮБК)		-25,99	0,15	-1,87	0,32
8	п. Виноградный	Анапский район	-26,17	0,25	-1,98	0,20
9	с. Молдаванское	Крымский район	-27,27	0,19	-1,20	0,06
10	п. Большие ху- тора	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 район	-25,29	0,35	2,82	0,30
15	ст. Старотита- ровская		-27,31	0,40	2,74	0,07
16	п. Виноградный		-25,24	0,37	2,28	0,12
17	п. Виноградный	Анапский район	-25,83	0,20	1,55	0,03
18	с. Молдаванское	Крымский район	-26,15	0,21	1,00	0,23

После выделения и очистки этилового спирта и углеводов (остаточных сахаров) из экспериментальных сухих вин, изготовленных способом микровиноделия, проводились исследования изотопного состава углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (показатель $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$) и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ (показатель $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$), результаты которых представлены в таблице 14.

Таблица 14 - Изотопный состав углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в компонентах экспериментальных вин – этаноле, углеводах (остаточных сахарах) и воде

№ пп	Состав изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в этаноле	Состав изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в углеводах (остаточных сахарах)	Состав изотопов кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в воде
	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} \pm U, \text{‰}$	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} \pm U, \text{‰}$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}} \pm U, \text{‰}$
1	-25,00 $\pm$ 0,08	-24,96 $\pm$ 0,27	4,69 $\pm$ 0,13
2	-24,96 $\pm$ 0,23	-24,55 $\pm$ 0,07	4,59 $\pm$ 0,10
3	-26,69 $\pm$ 0,05	-25,53 $\pm$ 0,06	0,67 $\pm$ 0,06
4	-27,91 $\pm$ 0,08	-26,68 $\pm$ 0,01	0,66 $\pm$ 0,05
5	-27,32 $\pm$ 0,08	-26,23 $\pm$ 0,18	-0,05 $\pm$ 0,10
6	-28,51 $\pm$ 0,10	-21,54 $\pm$ 0,23	-1,89 $\pm$ 0,06
7	-28,16 $\pm$ 0,02	-28,15 $\pm$ 0,04	-1,22 $\pm$ 0,13
8	-28,62 $\pm$ 0,16	-28,47 $\pm$ 0,08	-1,86 $\pm$ 0,10
9	-29,06 $\pm$ 0,01	-27,93 $\pm$ 0,09	-0,90 $\pm$ 0,08
10	-24,52 $\pm$ 0,10	-24,35 $\pm$ 0,14	2,27 $\pm$ 0,08
11	-24,61 $\pm$ 0,01	-24,65 $\pm$ 0,09	2,96 $\pm$ 0,07
12	-25,01 $\pm$ 0,02	-25,35 $\pm$ 0,20	2,41 $\pm$ 0,13
13	-28,17 $\pm$ 0,05	-27,19 $\pm$ 0,18	1,74 $\pm$ 0,06
14	-27,11 $\pm$ 0,08	-25,98 $\pm$ 0,19	1,69 $\pm$ 0,07
15	-29,23 $\pm$ 0,06	-28,62 $\pm$ 0,06	-1,56 $\pm$ 0,15
16	-28,57 $\pm$ 0,04	-27,26 $\pm$ 0,23	2,68 $\pm$ 0,17
17	-28,88 $\pm$ 0,06	-28,48 $\pm$ 0,01	1,82 $\pm$ 0,09
18	-29,02 $\pm$ 0,02	-27,84 $\pm$ 0,02	1,08 $\pm$ 0,04

Сезон 2017 года

В таблице 15 представлены результаты исследований изотопного состава $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ углерода в углеводах (общий сахар), а также состава изотопов кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ во внутриклеточной воде винограда, отобранного в 2017 году и произрастающего в поселке «Семигорье» Краснодарского края.

Таблица 15 - Изотопный состав в компонентах винограда урожая 2017 г.

№ пп	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	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 Совиньон	-24,91	0,07	1,16	0,13

Продолжение таблицы 15

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 Золотовский	-23,89	0,07	3,04	0,18

После выделения и очистки этилового спирта и углеводов (остаточных сахаров) из экспериментальных сухих вин, изготовленных в лабораторных условиях, проводились исследования изотопного состава углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (показатель $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$) и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ (показатель $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$), результаты которых представлены в таблице 16.

Таблица 16 - Изотопный состав углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в компонентах экспериментальных вин – этаноле, углеводах (остаточных сахарах) и воде

№ пп	Состав изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в этаноле	Состав изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в углеводах (остаточных сахарах)	Состав изотопов кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в воде
	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} \pm U, \text{‰}$	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} \pm U, \text{‰}$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}} \pm U, \text{‰}$
1	$-25,78 \pm 0,19$	$-25,79 \pm 0,01$	$1,99 \pm 0,01$
2	$-26,28 \pm 0,20$	$-26,62 \pm 0,13$	$1,73 \pm 0,01$
3	$-25,99 \pm 0,06$	$-26,62 \pm 0,07$	$2,84 \pm 0,01$
4	$-26,28 \pm 0,01$	$-26,77 \pm 0,06$	$3,53 \pm 0,03$
5	$-27,29 \pm 0,01$	$-27,36 \pm 0,22$	$3,51 \pm 0,01$
6	$-25,94 \pm 0,02$	$-26,88 \pm 0,10$	$2,40 \pm 0,13$
7	-	-	-
8	$-26,28 \pm 0,09$	$-26,56 \pm 0,01$	$3,04 \pm 0,18$

3.1.2 Виноград и вино Ростовской области

В таблице 17 представлены результаты исследований винограда, выращенного в двух виноградарских районах Ростовской области в 2016 г.

Таблица 17 - Изотопный состав в компонентах образцов винограда Ростовской области

№ пп	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 район, п. Саркел	-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 район, х. Малая Мартыновка	-24,73	0,20	6,26	0,27

После выделения и очистки этилового спирта и углеводов (остаточных сахаров) из экспериментальных сухих вин, изготовленных способом микровиноделия, проводились исследования изотопного состава углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (показатель $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$) и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ (показатель $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$), результаты которых представлены в таблице 18.

Таблица 18 - Изотопный состав углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в компонентах экспериментальных вин – этаноле, углеводах (остаточных сахарах) и воде

№ пп	Состав изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в этаноле	Состав изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в углеводах (остаточных сахарах)	Состав изотопов ки- слорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в воде
	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} \pm U$, ‰	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} \pm U$, ‰	$\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}} \pm U$, ‰
1	$-27,74 \pm 0,05$	$-26,75 \pm 0,14$	$3,19 \pm 0,07$
2	$-26,73 \pm 0,09$	$-27,51 \pm 0,02$	$2,56 \pm 0,07$
3	$-28,97 \pm 0,11$	$-27,84 \pm 0,13$	$-1,04 \pm 0,06$
4	$-26,22 \pm 0,09$	$-25,86 \pm 0,10$	$6,45 \pm 0,05$

3.1.3 Виноград и вино Республики Дагестан

В таблице 19 представлены результаты исследований семи образцов винограда, которые были отобраны в четырех районах Республики Дагестан в ходе сбора урожая 2016 года.

Таблица 19 - Изотопный состав в компонентах образцов винограда Республики Дагестан (урожай 2016 г.)

№ пп	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

После выделения и очистки этилового спирта и углеводов (остаточных сахаров) из экспериментальных сухих вин, изготовленных в лабораторных условиях, проводились исследования изотопного состава углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (показатель $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$) и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ (показатель $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$), результаты которых представлены в таблице 20.

Таблица 20 - Изотопный состав углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в компонентах экспериментальных вин – этаноле, углеводах (остаточных сахарах) и воде

Номер пробы	Состав изотопов угле- рода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в этаноле	Состав изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в углеводах (остаточных сахарах)	Состав изотопов кисло- рода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в воде
	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} \pm U$, ‰	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} \pm U$, ‰	$\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}} \pm U$, ‰
1	-27,79 $\pm$ 0,11	-27,53 $\pm$ 0,06	0,19 $\pm$ 0,08
2	-29,14 $\pm$ 0,04	-27,10 $\pm$ 0,09	-0,24 $\pm$ 0,02
3	-28,07 $\pm$ 0,01	-27,67 $\pm$ 0,16	1,24 $\pm$ 0,22
4	-28,15 $\pm$ 0,06	-27,57 $\pm$ 0,03	0,11 $\pm$ 0,11
5	-25,22 $\pm$ 0,01	-24,18 $\pm$ 0,05	1,80 $\pm$ 0,11
6	-25,78 $\pm$ 0,11	-26,69 $\pm$ 0,23	1,09 $\pm$ 0,01
7	-27,77 $\pm$ 0,03	-28,48 $\pm$ 0,07	-0,15 $\pm$ 0,24

3.1.4 Виноград и вино Крыма

Сезон 2015 года

В таблице 21 представлены результаты изотопных исследований одиннадцати образцов винограда сезона 2015 г., выращенных в четырех виноградарских районах Крыма.

Таблица 21 - Изотопный состав в компонентах винограда урожая 2015 г.

№ пп	Район произрастания	Сорт виногра- да	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 Южнобережный	Мускат белый	-22,83	0,05	3,23	0,01
2		Каберне Совиньон	-22,24	0,09	4,21	0,01
3		Гарс Левелю	-23,58	0,19	3,04	0,01
4		Бастардо Магарацкий	-24,78	0,45	3,31	0,03
5	Западный при- морско-степной	Каберне Совиньон	-21,85	0,52	5,19	0,04
6		Мускат белый	-24,91	0,10	4,69	0,01
7	Западный предгорно- приморский	Каберне Совиньон	-22,80	0,18	2,34	0,01
8		Алиготе	-25,00	0,15	2,77	0,02
9	Восточный Южнобережной зоны	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

После выделения и очистки этилового спирта и углеводов (остаточных сахаров) из экспериментальных сухих вин, изготовленных способом микровиноделия, проводились исследования изотопного состава углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (показатель $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$) и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ (показатель $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$), результаты которых представлены в таблице 22.

Таблица 22 - Изотопный состав углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в компонентах экспериментальных вин – этаноле, углеводах и воде

Номер пробы	Состав изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в этаноле	Состав изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в углеводах (остаточных сахарах)	Состав изотопов кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в воде
	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} \pm U, \text{‰}$	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} \pm U, \text{‰}$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}} \pm U, \text{‰}$
1	$-25,42 \pm 0,17$	$-23,60 \pm 0,24$	$2,48 \pm 0,01$
2	$-24,35 \pm 0,14$	$-22,65 \pm 0,27$	$4,09 \pm 0,04$
3	$-24,89 \pm 0,15$	$-22,96 \pm 0,41$	$2,15 \pm 0,01$
4	-	-	-
5	$-24,09 \pm 0,15$	$-23,30 \pm 0,14$	$4,09 \pm 0,03$
6	$-26,21 \pm 0,06$	$-25,63 \pm 0,05$	$4,24 \pm 0,01$
7	$-24,60 \pm 0,19$	$-24,32 \pm 0,34$	$2,03 \pm 0,02$
8	$-26,67 \pm 0,37$	$-25,33 \pm 0,10$	$2,66 \pm 0,01$
9	$-26,20 \pm 0,11$	$-26,55 \pm 0,21$	$1,47 \pm 0,01$
10	$-22,91 \pm 0,09$	$-23,54 \pm 0,33$	$3,86 \pm 0,01$
11	-	-	-

Сезон 2016 года

В таблице 23 представлены результаты изотопных исследований девяти образцов винограда сезона 2016 г., выращенных в четырех виноградарских районах Крыма.

Таблица 23 - Изотопный состав в компонентах образцов винограда урожая 2016 г.

№ пп	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 Совиньон	-23,71	0,16	2,34	0,30
3		Ркацители	-23,88	0,07	1,92	0,17
4		Каберне Совиньон	-25,08	0,17	2,77	0,15
5	Западный Южнобережной зоны	Ркацители	-23,14	0,03	1,23	0,16
6		Каберне Совиньон	-26,74	0,02	0,40	0,10
7	Восточный Южнобережной зоны	Алиготе	-24,78	0,06	2,32	0,36
8		Каберне Совиньон	-20,74	0,03	4,11	0,13
9	Западный при-морско-степной	Каберне Совиньон	-21,91	0,08	4,45	0,03

После выделения и очистки этилового спирта и углеводов (остаточных сахаров) из экспериментальных сухих вин, изготовленных в лабораторных условиях, проводились исследования изотопного состава углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (показатель $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$) и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ (показатель $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$), результаты которых представлены в таблице 24.

Таблица 24 - Изотопный состав углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в компонентах экспериментальных вин – этаноле, углеводах (остаточных сахарах) и воде

Номер пробы	Состав изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в этаноле	Состав изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в углеводах (остаточных сахарах)	Состав изотопов кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в воде
	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} \pm U, \text{‰}$	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} \pm U, \text{‰}$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}} \pm U, \text{‰}$
1	$-25,69 \pm 0,05$	$-25,13 \pm 0,12$	$3,71 \pm 0,12$
2	$-25,43 \pm 0,05$	$-25,54 \pm 0,08$	$1,99 \pm 0,10$
3	$-26,52 \pm 0,05$	$-26,24 \pm 0,02$	$2,23 \pm 0,05$
4	$-27,29 \pm 0,05$	$-27,28 \pm 0,01$	$3,33 \pm 0,02$
5	$-24,82 \pm 0,04$	$24,76 \pm 0,01$	$1,98 \pm 0,14$
6	$-28,52 \pm 0,01$	$-27,43 \pm 0,04$	$0,69 \pm 0,27$
7	$-26,81 \pm 0,03$	$-25,60 \pm 0,09$	$2,19 \pm 0,09$
8	$-24,26 \pm 0,04$	$-24,10 \pm 0,01$	$4,59 \pm 0,16$
9	$-24,58 \pm 0,03$	$-24,58 \pm 0,24$	$5,00 \pm 0,08$

Сезон 2017 года

В таблице 25 представлены результаты изотопных исследований девяти образцов винограда сезона 2017 г., отобранных в трех виноградарских районах Крыма.

Таблица 25 - Изотопного состав в компонентах образцов винограда урожая 2017 г.

№ пп	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 приморско-степной	Мерло	-23,54	0,03	1,31	0,01
2		Совиньон Зеленый	-23,33	0,10	2,17	0,02
3	Западный Южнобережной	Алиготе	-24,56	0,01	0,64	0,01
4		Сира	-26,42	0,01	-0,12	0,01

Продолжение таблицы 25

5	Западный предгорно- приморский	Каберне Совиньон	-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

После выделения и очистки этилового спирта и углеводов (остаточных сахаров) из экспериментальных сухих вин, изготовленных способом микровиноделия, проводились исследования изотопного состава углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (показатель $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$) и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ (показатель $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$), результаты которых представлены в таблице 26.

Таблица 26 - Изотопный состав углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в компонентах экспериментальных вин – этаноле, углеводах (остаточных сахарах) и воде

Номер пробы	Состав изотопов угле- рода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в этаноле	Состав изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в углеводах (остаточных сахарах)	Состав изотопов кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в воде
	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} \pm U, \text{‰}$	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} \pm U, \text{‰}$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}} \pm U, \text{‰}$
1	$-25,67 \pm 0,03$	$-25,92 \pm 0,05$	$2,59 \pm 0,01$
2	$-24,47 \pm 0,13$	$-23,77 \pm 0,18$	$3,80 \pm 0,01$
3	$-26,12 \pm 0,20$	$-25,29 \pm 0,06$	$2,43 \pm 0,01$
4	$-28,08 \pm 0,24$	$-27,41 \pm 0,04$	$0,98 \pm 0,01$
5	$-27,17 \pm 0,04$	$-27,26 \pm 0,01$	$1,61 \pm 0,01$
6	$-27,83 \pm 0,19$	$-26,34 \pm 0,10$	$1,28 \pm 0,01$
7	$-27,21 \pm 0,25$	$-27,13 \pm 0,14$	$-2,76 \pm 0,02$
8	$-26,00 \pm 0,11$	$-26,30 \pm 0,15$	$2,28 \pm 0,01$
9	$-28,15 \pm 0,06$	$-27,73 \pm 0,08$	$1,12 \pm 0,01$

3.1.5 Вина и виноматериалы российского производства

В соответствии с разработанными методами подготовки проб из данных образцов были получены чистые препараты целевых компонентов (углеводы и этанол) для дальнейших измерений. В таблице 27 приведены основные результаты исследований состава стабильных изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в

углеводах и этаноле и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в воде тридцати шести образцов вин и виноматериалов, произведенных в Российской Федерации.

Таблица 27 - Изотопный состав целевых компонентов винодельческой продукции, произведенной в Российской Федерации

№ пп	Наименование	Состав изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в этаноле	Состав изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в углеводах	Состав изотопов кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в воде
		$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} \pm U, \text{‰}$	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} \pm U, \text{‰}$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}} \pm U, \text{‰}$
1	2	3	4	5
1	Вино «Абрау купаж темный»	$-26,33 \pm 0,07$	$25,60 \pm 0,14$	$2,31 \pm 0,04$
2	Вино «Matarcha»	$-26,19 \pm 0,19$	$-24,97 \pm 0,23$	$5,83 \pm 0,16$
3	Вино «Chateau Tamagne»	$-27,24 \pm 0,21$	$-27,54 \pm 0,34$	$1,38 \pm 0,10$
4	Вино «Chateau L'Éclair»	$-26,86 \pm 0,03$	$25,21 \pm 0,28$	$-0,48 \pm 0,10$
5	Вино «Каберне Таманское»	$-26,24 \pm 0,01$	$-25,54 \pm 0,14$	$0,78 \pm 0,02$
6	Вино «Каберне Фанаго- рии. Номерной резерв»	$-27,00 \pm 0,03$	$-26,66 \pm 0,21$	$2,11 \pm 0,08$
7	Вино «Геленджик»	$-24,45 \pm 0,09$	$-25,23 \pm 0,14$	$-0,63 \pm 0,08$
8	Виноматериал Саперави	$-24,64 \pm 0,15$	$-25,14 \pm 0,30$	$1,43 \pm 0,01$
9	Виноматериал «Каберне Качинское»	$-23,76 \pm 0,05$	$-23,77 \pm 0,29$	$2,77 \pm 0,01$
10	Виноматериал «Каберне сортовое»	$-26,33 \pm 0,10$	$-26,86 \pm 0,16$	$3,24 \pm 0,01$
11	Виноматериал «Каберне Качинское»	$-26,19 \pm 0,06$	$-24,50 \pm 0,35$	$3,42 \pm 0,36$
12	Виноматериал «Каберне Качинское»	$-27,24 \pm 0,06$	$-24,49 \pm 0,31$	$2,75 \pm 0,13$
13	Виноматериал «Алиготе Качинское»	$-26,86 \pm 0,25$	$-25,59 \pm 0,46$	$3,25 \pm 0,01$
14	Вино «Jean Bourgeois Merlot»	$-25,68 \pm 0,16$	$-25,75 \pm 0,07$	$2,69 \pm 0,16$
15	Вино «Бастардо Инкерман»	$-25,69 \pm 0,13$	$-25,96 \pm 0,21$	$7,92 \pm 0,20$
16	Вино «Каберне»	$-25,24 \pm 0,25$	$-26,03 \pm 0,04$	$6,56 \pm 0,25$
17	Вино «Мерло Качинское»	$-23,25 \pm 0,09$	$-24,88 \pm 0,14$	$2,18 \pm 0,01$
18	Вино «Алиготе»	$-23,82 \pm 0,08$	$-24,19 \pm 0,05$	$2,61 \pm 0,15$
19	Вино «Каберне Качинское»	$-23,37 \pm 0,09$	$-24,63 \pm 0,04$	$1,48 \pm 0,08$
20	Вино «Совиньон Крымский»	$-24,85 \pm 0,01$	$-25,39 \pm 0,05$	$3,69 \pm 0,12$
21	Вино «Саперави Инкерман»	$-25,58 \pm 0,01$	$-26,07 \pm 0,03$	$2,08 \pm 0,13$

Продолжение таблицы 27

1	2	3	4	5
22	Вино «Каберне Инкерман»	-25,39 ± 0,06	-26,27 ± 0,09	1,83 ± 0,01
23	Вино «Шардоне Инкерман»	-26,03 ± 0,07	-25,28 ± 0,05	0,59 ± 0,01
24	Вино «Жемчужина Инкермана»	-26,22 ± 0,10	-25,43 ± 0,03	1,49 ± 0,01
25	Вино «Рубин Херсонеса»	-25,11 ± 0,02	-24,22 ± 0,04	2,14 ± 0,01
26	Вино «Мерло-Каберне»	-25,56 ± 0,13	-25,02 ± 0,02	1,91 ± 0,01
27	Виноматериал красный «Каберне»	-25,95 ± 0,01	-26,46 ± 0,08	8,89 ± 0,26
28	Виноматериал красный «Каберне»	-25,02 ± 0,01	-25,76 ± 0,02	5,58 ± 0,01
29	Виноматериал красный «Каберне»	-25,89 ± 0,02	-26,02 ± 0,04	8,23 ± 0,01
30	Виноматериал красный «Каберне»	-25,59 ± 0,05	-25,82 ± 0,09	5,65 ± 0,08
31	Виноматериал красный «Мерло»	-26,07 ± 0,01	-26,14 ± 0,04	8,03 ± 0,03
32	Виноматериал красный «Мерло»	-25,26 ± 0,01	-25,39 ± 0,05	4,97 ± 0,13
33	Виноматериал красный «Каберне-Совиньон»	-25,62 ± 0,05	-25,72 ± 0,05	4,14 ± 0,09
34	Виноматериал красный «Бастардо»	-25,86 ± 0,02	-26,33 ± 0,03	9,91 ± 0,28
35	Виноматериал красный «Каберне Качинское»	-24,67 ± 0,05	-25,05 ± 0,07	1,86 ± 0,01
36	Виноматериал красный «Саперави Крымское Классическое»	-24,90 ± 0,04	-25,42 ± 0,01	-0,28 ± 0,01

3.1.6 Вина и виноматериалы, произведенные странами СНГ и ближнего зарубежья

В таблице 28 представлены основные результаты исследований состава стабильных изотопов $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в углеводах и этаноле и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в воде двадцати семи образцов вин и виноматериалов, произведенных на территории стран СНГ и ближнего зарубежья.

Таблица 28 – Изотопный состав целевых компонентов винодельческой продукции, произведенной на территории стран СНГ и ближнего зарубежья

№ пп	Наименование	Состав изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в этаноле	Состав изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в углеводах	Состав изотопов кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в воде
		$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} \pm U, \text{‰}$	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} \pm U, \text{‰}$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}} \pm U, \text{‰}$
1	2	3	4	5
1	Вино «Чегем»	$-26,42 \pm 0,13$	$-26,73 \pm 0,35$	$-14,69 \pm 0,02$
2	Вино «Вагрус»	$-26,25 \pm 0,01$	$-25,64 \pm 0,17$	$-9,56 \pm 0,02$
3	Вино «Саперави»	$-27,82 \pm 0,08$	$-27,47 \pm 0,23$	$1,87 \pm 0,16$
4	Вино «Мукузани»	$-27,89 \pm 0,19$	$-27,14 \pm 0,15$	$5,45 \pm 0,17$
5	Вино «Каберне»	$-26,86 \pm 0,09$	$-25,98 \pm 0,07$	$1,77 \pm 0,02$
6	Вино «Karas»	$-28,05 \pm 0,09$	$-26,71 \pm 0,01$	$4,86 \pm 0,09$
7	Виноматериал ординарный сортовой красный «Каберне»	$-26,27 \pm 0,08$	$-26,21 \pm 0,05$	$-4,03 \pm 0,25$
8	Виноматериал ординарный сортовой красный «Бастардо»	$26,55 \pm 0,04$	$-26,30 \pm 0,18$	$-4,24 \pm 0,06$
9	Виноматериал ординарный сортовой	$-26,20 \pm 0,02$	$-25,91 \pm 0,14$	$-1,35 \pm 0,21$
10	Вино «Proshyan»	$-27,53 \pm 0,27$	$-27,39 \pm 0,27$	$4,25 \pm 0,01$
11	Виноматериал ординарный сортовой белый «Мускат»	$-27,83 \pm 0,01$	$-26,14 \pm 0,15$	$4,39 \pm 0,13$
12	Виноматериал ординарный белый	$-28,09 \pm 0,09$	$-27,89 \pm 0,18$	$-9,88 \pm 0,12$
13	Виноматериал ординарный белый	$-26,13 \pm 0,05$	$-26,02 \pm 0,09$	$4,21 \pm 0,25$
14	Виноматериал ординарный сортовой красный «Каберне»	$-25,92 \pm 0,04$	$-26,15 \pm 0,12$	$0,82 \pm 0,03$
15	Виноматериал ординарный сортовой красный «Каберне»	$-27,56 \pm 0,02$	$-27,36 \pm 0,10$	$-2,41 \pm 0,13$
16	Виноматериал ординарный сортовой красный «Пино Нуар»	$-27,02 \pm 0,06$	$-26,86 \pm 0,08$	$2,32 \pm 0,24$
17	Виноматериал ординарный красный	$-26,77 \pm 0,07$	$-26,70 \pm 0,05$	$-0,76 \pm 0,30$
18	Виноматериал ординарный красный	$-27,42 \pm 0,10$	$-27,19 \pm 0,11$	$0,50 \pm 0,06$
19	Вино «Цинандали»	$-27,75 \pm 0,16$	$-28,83 \pm 0,09$	$1,46 \pm 0,27$
20	Вино «Reserve»	$-28,00 \pm 0,06$	$-27,57 \pm 0,17$	$3,57 \pm 0,01$
21	Виноматериал белый	$-25,89 \pm 0,07$	$-26,17 \pm 0,18$	$1,15 \pm 0,06$

Продолжение таблицы 28

1	2	3	4	5
22	Виноматериал ординарный сортовой белый «Мускат»	$-26,18 \pm 0,06$	$-26,72 \pm 0,21$	$-1,06 \pm 0,04$
23	Виноматериал ординарный сортовой белый «Мускат»	$-25,02 \pm 0,09$	$-24,59 \pm 0,06$	$-1,54 \pm 0,18$
24	Виноматериал ординарный сортовой красный «Каберне»	$-26,27 \pm 0,08$	$-26,21 \pm 0,05$	$-4,03 \pm 0,25$
25	Виноматериал ординарный сортовой белый «Совиньон»	$-26,48 \pm 0,01$	$-25,90 \pm 0,19$	$-6,82 \pm 0,16$
26	Виноматериал ординарный сортовой красный «Бастардо»	$-26,55 \pm 0,04$	$-26,30 \pm 0,18$	$-4,24 \pm 0,06$
27	Виноматериал ординарный красный	$-26,20 \pm 0,02$	$-25,91 \pm 0,14$	$-1,35 \pm 0,21$

3.1.7 Вина и виноматериалы зарубежного производства

В таблице 29 представлены основные результаты исследований состава стабильных изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в углеводах и этаноле и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в воде тридцати пяти образцов вин и виноматериалов, произведенных мировыми винодельческими хозяйствами.

Таблица 29 – Изотопный состав целевых компонентов зарубежной винодельческой продукции

№ пп	Наименование	Состав изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в этаноле	Состав изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в углеводах	Состав изотопов кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в воде
		$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} \pm U, \text{‰}$	$\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}} \pm U, \text{‰}$	$\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}} \pm U, \text{‰}$
1	2	3	4	5
1	Виноматериал красный «Каберне»	$-25,89 \pm 0,02$	$-26,02 \pm 0,04$	$8,23 \pm 0,01$
2	Виноматериал красный «Каберне»	$-25,59 \pm 0,05$	$-25,82 \pm 0,09$	$5,65 \pm 0,08$
3	Виноматериал красный «Мерло»	$-26,07 \pm 0,01$	$-26,14 \pm 0,04$	$8,03 \pm 0,03$
4	Виноматериал красный «Мерло»	$-25,26 \pm 0,01$	$-25,39 \pm 0,05$	$4,97 \pm 0,13$

Продолжение таблицы 29

1	2	3	4	5
5	Виноматериал красный «Каберне Совиньон»	-25,62 ± 0,05	-25,72 ± 0,05	4,14 ± 0,09
6	Виноматериал красный «Бастардо»	-25,86 ± 0,02	-26,33 ± 0,03	9,91 ± 0,28
7	«Agradezco»	-26,00 ± 0,06	-24,84 ± 0,09	3,26 ± 0,04
8	Вино «Carranc»	-26,35 ± 0,06	-25,29 ± 0,15	2,91 ± 0,06
9	Вино «San Valero»	-26,08 ± 0,04	-25,57 ± 0,31	1,55 ± 0,12
10	Вино «Castillo San Simon»	-25,86 ± 0,12	-25,66 ± 0,01	2,86 ± 0,04
11	Вино «Campo De La Mancha Tempranillo»	-25,90 ± 0,16	-25,37 ± 0,05	7,04 ± 0,05
12	Вино «Pluvium»	-25,52 ± 0,08	-25,33 ± 0,06	4,80 ± 0,16
13	Вино «Мавруд 2012»	-25,27 ± 0,01	-25,15 ± 0,05	5,51 ± 0,06
14	Вино «Мавруд Асенова Крепост 2013»	-25,16 ± 0,07	-25,67 ± 0,05	4,45 ± 0,13
15	Вино «Menada»	-25,62 ± 0,02	-26,17 ± 0,16	2,29 ± 0,17
16	Вино «Cape Diamond Ruby Cabernet»	-28,97 ± 0,18	-28,55 ± 0,05	-9,19 ± 0,08
17	Вино «Fielding»	-26,46 ± 0,02	-25,76 ± 0,07	-2,77 ± 0,12
18	Вино «Classic» Cabernet Sauvignon»	-26,57 ± 0,05	-26,43 ± 0,07	0,36 ± 0,04
19	Вино «Pergolaia»	-26,93 ± 0,06	-27,01 ± 0,08	2,86 ± 0,04
20	Вино «L`ARCO»	-27,60 ± 0,05	-28,37 ± 0,05	0,63 ± 0,07
21	Вино «Campofiorin»	-27,00 ± 0,05	-26,75 ± 0,05	0,68 ± 0,04
22	Вино «Rocarel»	-27,50 ± 0,08	-27,44 ± 0,22	0,71 ± 0,13
23	Вино «Les Chartrons Cotes de Bourg»	-26,92 ± 0,04	-26,90 ± 0,06	3,22 ± 0,01
24	Вино «Romantic»	-27,08 ± 0,02	-27,02 ± 0,10	4,62 ± 0,11
25	Вино «Rotwein»	-29,09 ± 0,15	-26,81 ± 0,06	-2,77 ± 0,08
26	Вино «Spatburgunder»	-28,60 ± 0,02	-28,70 ± 0,02	-0,42 ± 0,40
27	Вино «Alvisa Five Continents. Malbec»	-27,01 ± 0,08	-26,47 ± 0,07	2,81 ± 0,07
28	Вино «Château Pourcaud»	-27,69 ± 0,04	-28,13 ± 0,01	3,78 ± 0,24
29	Виноматериал красный «Каберне»	-26,48 ± 0,08	-26,20 ± 0,10	2,32 ± 0,15
30	Вино «HD»	-27,71 ± 0,12	-28,20 ± 0,20	0,76 ± 0,05
31	Вино «Kirmizi Sek Sarap»	-26,47 ± 0,09	-26,70 ± 0,02	6,43 ± 0,16
32	Вино «Svatovavrinecke»	-27,30 ± 0,19	-27,83 ± 0,19	-1,52 ± 0,14
33	Виноматериал красный	-26,04 ± 0,06	-25,92 ± 0,05	3,54 ± 0,15
34	Виноматериал красный «Каберне»	-25,76 ± 0,09	-25,34 ± 0,12	9,89 ± 0,35
35	Виноматериал красный «Каберне	-25,22 ± 0,08	-25,08 ± 0,14	5,74 ± 0,35

3.2 Анализ полученных результатов

В сезоны виноделия 2015-2017 гг. были исследованы образцы виноградно-винодельческой продукции из:

- Краснодарского края – двадцать шесть образцов винограда и двадцать пять образцов вин;
- Ростовской области - четыре образца винограда и четыре образца вина;
- Республики Дагестан - семь образцов винограда и семь образцов вин;
- Крыма – двадцать девять образцов винограда и двадцать семь образцов вин.

В результате исследований, проведенных в течение трех последовательных сезонов, впервые получены массивы научных данных о природном фракционировании изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в компонентах винограда, произрастающего в различных климатических зонах винодельческих регионов России. Научные знания, полученные в рамках диссертационной работы, коррелируют с общей базой данных, сформированной по результатам фундаментальных и прикладных работ зарубежных исследовательских коллективов. Анализ и обобщение совокупности полученных экспериментальных данных позволили сформировать общие диапазоны изменения значений показателей $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ и $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$ для:

- целевых компонентов (углеводы и вода) винограда из Краснодарского края (2016-2017 гг.) и полученного из него вина (рисунок 21 и 22 соответственно);

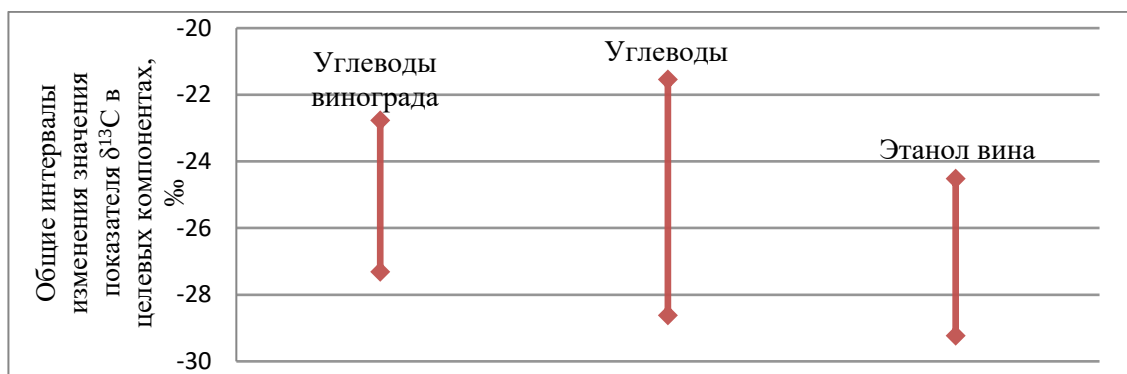


Рисунок 21 – Общие диапазоны измерений изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в целевых компонентах винограда и вина Краснодарского края

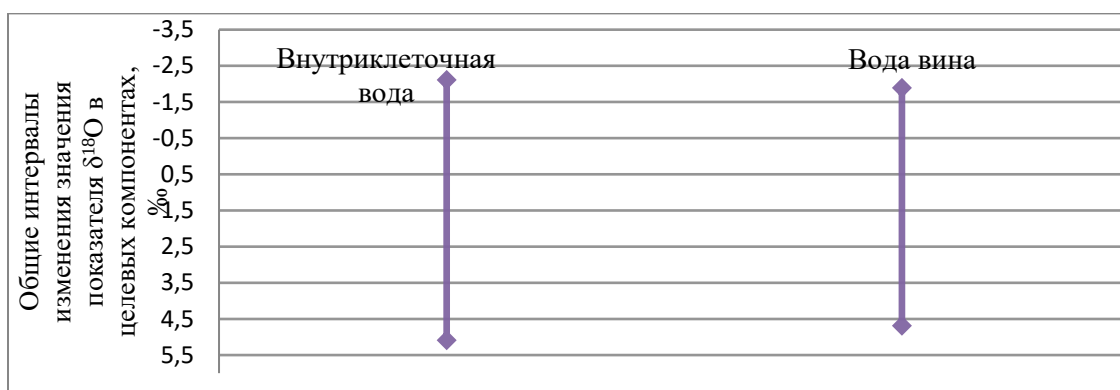


Рисунок 22 – Общие диапазоны измерений изотопов кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в целевых компонентах винограда и вина Краснодарского края

- целевых компонентов (углеводы и этанол) винограда из Ростовской области (2016 г.) и полученного из него вина (рисунок 23 и 24 соответственно);

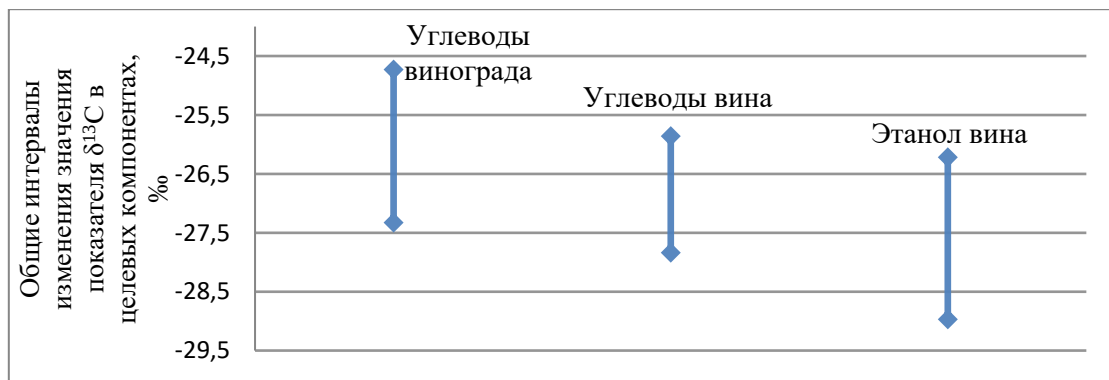


Рисунок 23 – Общие диапазоны измерений изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в целевых компонентах винограда и вина из Ростовской области



Рисунок 24 – Общие диапазоны измерений изотопов кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в целевых компонентах винограда и вина из Ростовской области

- целевых компонентов (углеводы и этанол) винограда из Республики Дагестан (2016 г.) и полученного из него вина (рисунок 25 и 26 соответственно);

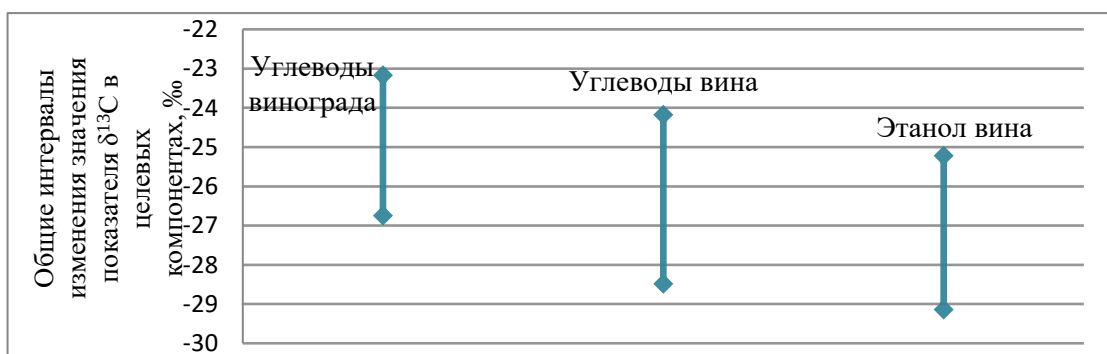


Рисунок 25 – Общие диапазоны измерений изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в целевых компонентах винограда и вина из Дагестана



Рисунок 26 – Общие диапазоны измерений изотопов кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в целевых компонентах винограда и вина из Дагестана

- целевых компонентов (углеводы и этанол) винограда из Крыма (2015-2017 гг.) и полученного из него вина (рисунок 27 и 28 соответственно).



Рисунок 27 – Общие диапазоны измерений изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в целевых компонентах винограда и вина из Крыма



Рисунок 28 – Общие диапазоны измерений изотопов кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в целевых компонентах винограда и вина из Крыма

Анализ совокупности экспериментальных данных, полученных в рамках исследований сусел и вин Краснодарского края, Ростовской области, Республики Дагестан и Крыма в течение трехлетнего периода выполнения работы, позволил выявить зависимость «Виноградные углеводы – Этанол», которая характеризует влияние техногенных факторов, в частности брожения, на распределение стабильных изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ между сахарами и образующимся в ходе брожения этанолом. Зависимость является линейной и описывается уравнением 13 ($r = 0,8247$):

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

где $\delta^{13}\text{C}_{\text{эт}}$ – состав изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в этаноле, выделенном из вина, ‰;

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

Следует подчеркнуть, что количественный уровень обогащения этанола «тяжелым» изотопом углерода ^{13}C всегда ниже из-за особого механизма перераспределения этого изотопа между структурными группами молекул исходного сахара и спирта, образующего в ходе брожения. Созданная зависимость в графическом формате представлена на рисунке 29.

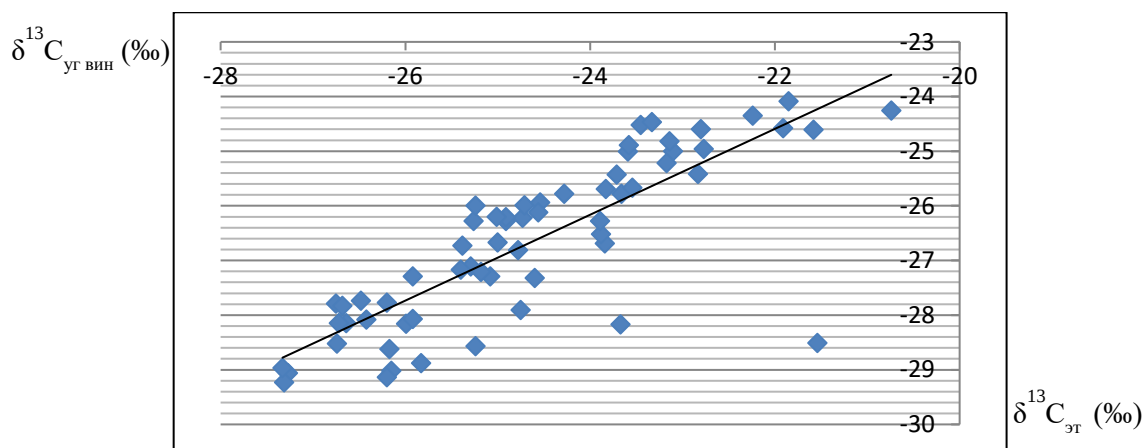


Рисунок 29 - Зависимость изотопного состава углерода углеводов ($\delta^{13}\text{C}_{\text{уг вин}}$) винограда и этанола ($\delta^{13}\text{C}_{\text{эт}}$) соответствующих вин

Математический анализ результатов исследования природного фракционирования стабильных изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в углеводах красных и белых сортов винограда, выращенных в четырех климатических зонах Российской Федерации, позволил разработать корреляционную зависимость между уровнем обогащения компонентов винограда «тяжёлым» изотопом углерода ^{13}C от температуры. Система «Виноградные углеводы – Интегральный температурный индекс», которая представлена в графическом формате на рисунке 30, характеризует зависимость состава изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ($\delta^{13}\text{C}_{\text{уг вин}}$) углеводов

от среднего интегрального температурного индекса соответствующей географической зоны выращивания винограда.

Математически зависимость описывается уравнением 14 ($r = 0,9853$):

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{уг вин}} = 0,1564 \times T - 31,0497, \quad (14)$$

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.

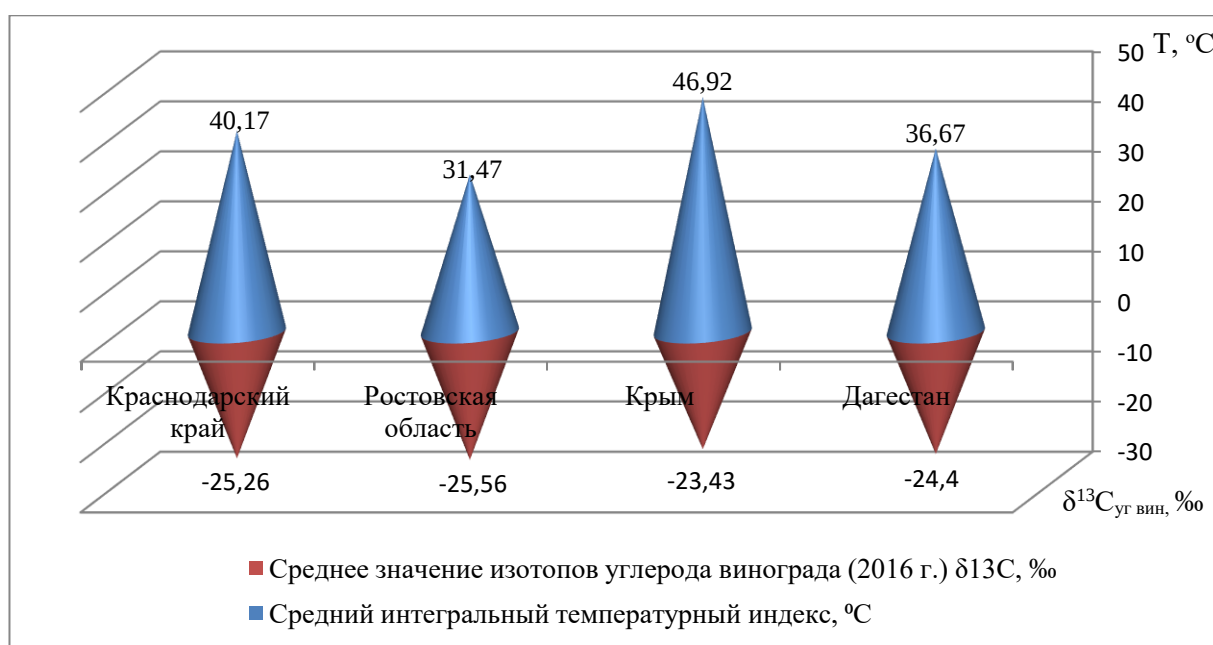


Рисунок 30 - Диаграмма зависимости изотопного состава углерода углеводов ($\delta^{13}\text{C}_{\text{уг вин}}$) винограда и интегрального температурного индекса (T) соответствующих географических зон выращивания винограда

На основе уравнений (13) и (14) построена математическая зависимость между средним интегральным температурным индексом и составом изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ этанола в винодельческой продукции – сухих винах. Данная зависимость, описываемая уравнением (15), может быть рекомендовано для использования в целях оценки соответствия заявленного наименования сухих вин и их географического происхождения.

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{эт}} = 0,1228 \times T - 31,7013, \quad (15)$$

где $\delta^{13}\text{C}_{\text{эт}}$ – состав изотопов углерода в этаноле вина, ‰;

T – среднее значение интегрального температурного индекса соответствующей зоны выращивания винограда, °C.

Для оценки может быть также использована обратная зависимость, описываемая уравнением (16):

$$T = (\delta^{13}\text{C}_{\text{эт}} + 31,7013) / 0,1228, \quad (16)$$

где $\delta^{13}\text{C}_{\text{эт}}$ – состав изотопов углерода в этаноле вина, ‰;

T – среднее значение интегрального температурного индекса соответствующей зоны выращивания винограда, °C.

Совокупность теоретических и экспериментальных результатов, полученных при выполнении работы 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 (поставки) продукции и технологическими особенностями производства, позволили разработать систему (алгоритм) оценки качества винодельческой продукции, которая обеспечивает ее подтверждение соответствия, в т.ч. расширенную идентификацию заявленному наименованию (типу), географическому происхождению и составу.

Принципиальный алгоритм разработанной системы оценки качества винодельческой продукции представлен на рисунке 31, который включает в себя проверку соответствия вина (виноматериала) НД, базе научных знаний о составах специфичных и корреляционных показателях и исследования изотопных соотношений углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ и кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в целевых компонентах (этаноле, углеводах и воде) вина или виноматериала с последующей оценкой соответствия продукции разработанным корреляционным зависимостям и/или интегральному температурному индексу.

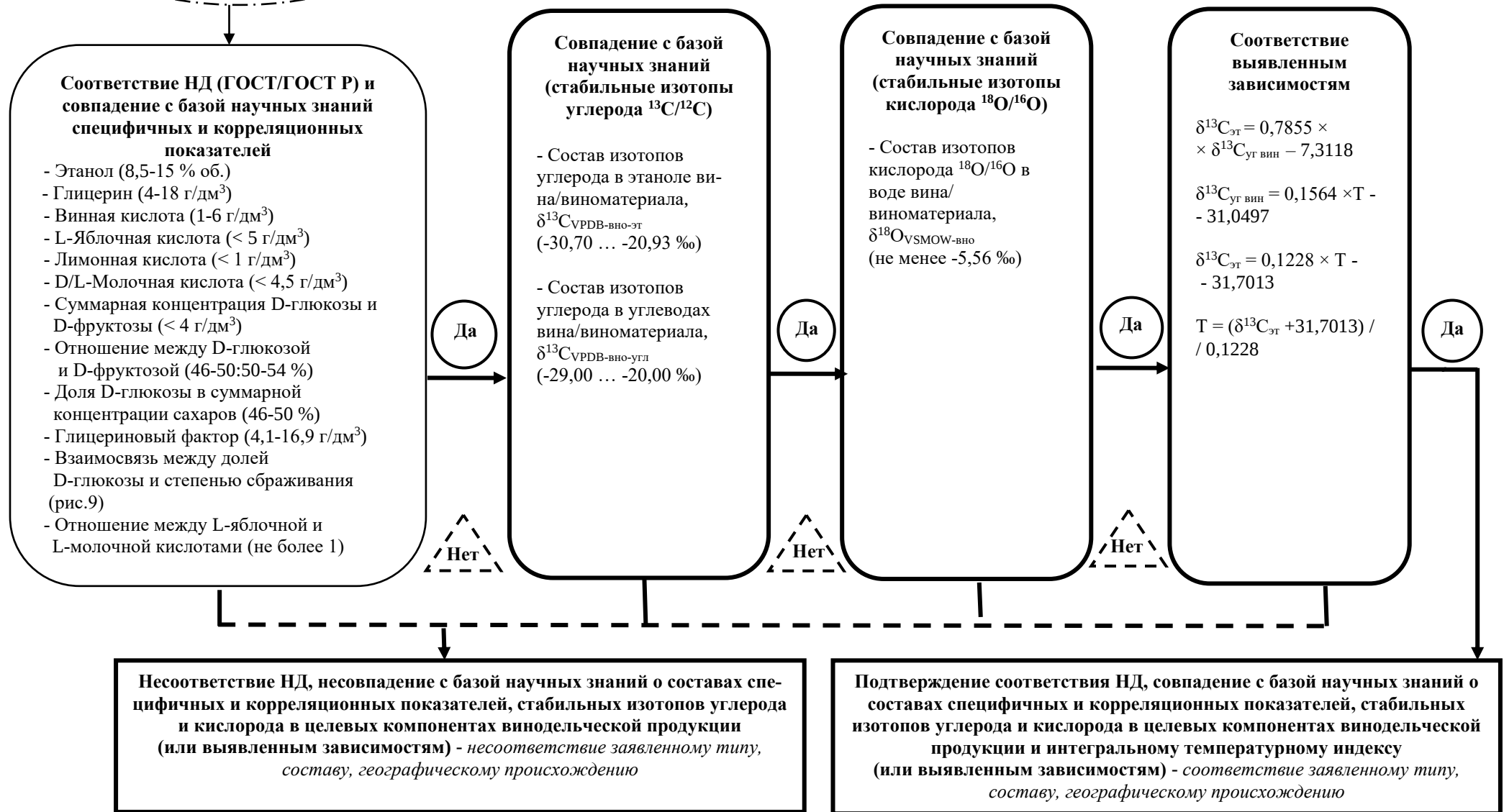


Рисунок 31 – Система (алгоритм) оценки качества винодельческой продукции с учетом аспектов ее географического происхождения

ОЦЕНКА 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 появляется возможность достижения технолого-экономических эффектов.

Технологические эффекты:

- сокращение времени проведения исследований в 2 раза;
- увеличение количества проведенных исследований образцов винодельческой продукции в 1,9 раза;
- повышение точности, достоверности проведения и объективности полученных результатов.

Экономические эффекты:

- сокращение издержек на проведение исследования на 20 % за счет уменьшения материальных затрат на приобретение реактивов, стандартных образцов, вспомогательных материалов (лабораторная посуда); издержек на заработную плату с начислениями в расчете на 1 исследование;
- увеличение объемов исследований в 1,9 раза за счет сокращения времени их проведения, при этом затраты сокращаются на 20 %;
- прибыль от исследования в год увеличивается в 2,3 раза;
- увеличение рентабельности исследований на 11,3 пункта;
- период окупаемости капитальных вложений 1,4 мес.

Таблица 30 – 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	-	-	0,0
руб./исследование	667	833	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

Дополнительно экономический эффект обеспечивался, на пример, после внедрения предлагаемой системы (алгоритма) оценки качества винодельческой продукции в систему производственного контроля качества и безопасности винодельческой продукции лаборатории компании «Городской супермаркет» (г. Москва) путем исключения или минимизации рисков от закупки, реализации и/или выпуска в торговое обращение фальсифицированной продукции. В финансовом выражении ущерб в виде административного взыскания (штрафа) в результате контрольно-надзорных мероприятий, проводимых уполномоченными службами федеральных органов исполнительной власти Российской Федерации, может составить от 100 до 300 тыс. руб. на партию продукции независимо от её размера. Более высокие риски связаны, например, с лишением торговой организации или промышленного предприятия лицензии на торговлю/производство винодельческой продукцией, что приведет к многомиллионным убыткам.

Таким образом, разработанная система (алгоритм) оценки качества позволяет также увеличить объемы реализации на рынке за счет исключения из продажи фальсифицированной продукции, несоответствующей своему составу, заявленному типу и географической принадлежности, что в свою очередь приведет к укреплению общественного доверия потребителей и усилению престижа российских вин.

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, ближнего и дальнего зарубежья.

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, исключая 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 СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВЗГУ - Вино с защищенным географическим указанием;

ВЗМП - Вино с защищенным наименованием места происхождения;

ФЗ – Федеральный закон;

СНГ - Содружество Независимых Государств;

ЕАЭС – Евразийский Экономический Союз;

ТС – Таможенный Союз;

ВАК – Высшая Аттестационная Комиссия;

Росстат – Федеральная служба государственной статистики;

ТР ТС – Технический регламент Таможенного союза;

ГОСТ Р – Межгосударственный стандарт;

IRMS - Isotope Ratio Mass Spectrometry;

SIRA - Stable Isotope Ratio Analysis;

ЕС – Европейский Союз;

МОВВ – Международная межправительственная организация по виноградарству и виноделию;

OIV – International Organisation of Vine and Wine;

ОЭИ – Одноэлементное исследование;

ЯМР - Ядерный магнитный резонанс;

SNIF-NMR - Specific Natural Isotope Fractionation-Nuclear Magnetic Resonance;

CS-qNMR - Cumulative Screening-quantitative Nuclear Magnetic Resonance;

МЭИ - Мультиэлементное исследование;

ICP-MS – Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry;

АТФ – Аденозинтрифосфат;

ФГК – Фосфоглицериновая кислота;

1,5-РДФ - Рибулозо-1,5-дифосфата;

НАДФ·Н – Никотинамидадениндинуклеотидфосфат;

ФЕП - Фосфоенолпировиноградная кислота;

ЩУК - Щавелевоуксусная кислота;

ПВК - Пировиноградная кислота;

ФГА – Фосфоглицериновый альдегид;

ФДА – Фосфодиоксиацетон;

ФАР – Фотосинтетически активная радиация;

ИФ - Интенсивность фотосинтеза;

ЮБК – Южный берег Крыма;

NCDC – The national Climatic Data Center;

FC-IRMS/SIRA - Flash Combustion-Isotope Ratio Mass Spectrometry / Stable Isotope Ratio Analysis;

MCO – Международный стандартный образец;

МАГАТЭ – Международное агентство по атомной энергии;

VPDB – Vienna PeeDee Belemnite;

RSD – Относительное стандартное отклонение;

EQ-IRMS/SIRA - Isotopic Equilibration-Isotope Ratio Mass Spectrometry / Stable Isotope Ratio Analysis;

PCO – Рабочий стандартный образец;

VSMOW 2 - Vienna-Standard Mean Ocean Water 2;

GISP - Greenland Ice Sheet Precipitation;

SLAP 2 - Standard Light Antarctic Precipitation 2;

GC-IRMS/SIRA – Gas Chromatography-Isotope Ratio Mass Spectrometry / Stable Isotope Ratio Analysis.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агеева, Н.М. Идентификация и экспертиза виноградных вин и коньяков / Н.М. Агеева, Т.И. Гугучкина. – Краснодар: [б.и.], 2008. – 174 с.
2. Аникина, Н.С. Научные основы идентификации подлинности виноградных виноматериалов и вин: дис. д-ра техн. наук: 05.18.05 / Аникина Надежда Станиславовна; Нац. инст. винограда и вина «Магарач». – Ялта, 2014. – 347 с.
3. Аникина, Н.С. Динамика физико-химических показателей в системе «виноград-виноматериал» / Н.С. Аникина, Д.Ю. Погорелов, М.А. Зенина // Виноградарство и виноделие Магарач. – 2016. - № 2. – С. 22-23.
4. Аникина, Н.С. Изучение буферной системы подлинных виноградных виноматериалов и вин / Н.С. Аникина, Т.А. Жиликова, Л.А. Михеева [и др.] // Магарач. Виноградарство и виноделие. – 2015. - № 1. – С. 31-33.
5. Аникина, Н.С. Исследование физико-химических показателей винограда и виноматериалов в зависимости от природно-климатической зоны Крыма / Н.С. Аникина, М.А. Зенина // Вестник Башкирского Государственного педагогического университета им. М. Акмуллы. – 2016. - № 4/1 (40). – С. 6-16.
6. Аникина, Н.С. Особенности нормативных требований по контролю качества и безопасности виноградных вин / Н.С. Аникина, Н.В. Гниломедова, Н.М. Агафонова [и др.] // Магарач. Виноградарство и виноделие. - 2016. - № 3. – С. 37-43.
7. Аникина, Н.С. Методология идентификации подлинности вин / Н.С. Аникина, В.Г. Гержикова, Н.В. Гниломедова [и др.]; под ред. Н.С. Аникиной. – Симферополь: Диайпи, 2017. – 152 с.
8. 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 [и др.] // Контроль качества продукции. – 2018. - № 2. – С. 51-58.

9. Бабанская, Н.Г. Безопасность продовольственного сырья и пищевых продуктов: учеб. пособие для студентов вузов / Н.Г. Бабанская, С.Б. Васильева, В.М. Позняковский. - Кемерово: КемТИПП, 2005 – 139 с.
10. Бейбулатов, М.Р. Экономический потенциал и перспективы развития виноградарства в крымском федеральном округе / М.Р. Бейбулатов, Н.И. Саблин // Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Экономика и управление. – 2016. – Т. 2 (68). – № 2. – С. 3-10.
11. Бродский, А.И. Химия изотопов / А.И. Бродский. – М.: Наука, 1957. – 595 с.
12. Бучаченко, А.Л. Новая изотопия в химии и биохимии / А.Л. Бучаченко. – М.: Наука, 2007. - 189 с.
13. Валуйко, Г.Г. Технология виноградных вин / Г.Г. Валуйко. - Симферополь: Таврида, 2001. - 624 с.
14. Валуйко, Г.Г. Теория и практика дегустации вин / Г.Г. Валуйко, Е.П. Шольц-Куликов. 3-е изд. - Симферополь: Таврида, 2012. – 253 с.
15. Галимов, Э.М. Природа биологического фракционирования изотопов / Э.М. Галимов. – М.: Наука, 1981. – 247 с.
16. Галимов, Э.М. Геохимия стабильных изотопов углерода / Э.М. Галимов. – М.: Недра, 1968. – 266 с.
17. Гержикова, В.Г. Методы контроля качества винодельческой продукции / В.Г. Гержикова, В.А. Загоруйко // Виноделие и виноградарство. – 2003. – № 5. – С. 24–26.
18. ГОСТ 31714-2012. Соки и соковая продукция. Идентификация. Определение стабильных изотопов углерода методом масс-спектрометрии. - Введ. 2013-07-01. – М.: Стандартинформ, 2013. – 11 с.
19. ГОСТ Р 32030 2013. Вина столовые и виноматериалы столовые. Общие технические условия. – Введ. 2014-07-01. – М.: Стандартинформ, 2014. – 15 с.
20. ГОСТ 31782-2012. Виноград свежий машинной и ручной уборки для промышленной переработки. Технические условия. – Введ. 2014-01-01. – М.: Стандартинформ, 2014. – 9 с.

21. Гюнтер, Х. Введение в курс спектроскопии ЯМР / Х. Гюнтер; пер. с англ. Ю.А. Устынюка, Н.М. Сергеева. – М.: Мир, 1984. – 478 с.
22. Дегенс, Э.Т. Геохимия осадочных образований / Э.Т. Дегенс; пер. с англ. Ю. В. Пашкова и Г. В. Семерниковой; под ред. и с предисл. Н. Б. Вассоевича и А. А. Карцева. – М.: Мир, 1967. - 299 с.
23. Дергунов, А.В. Влияние сортовых особенностей винограда на биохимические составляющие и качество вин / А.В. Дергунов, С.А. Лопин, О.М. Ильяшенко [и др.] // Виноделие и виноградарство. - 2014. - № 2. – С. 16-20.
24. Джеймс, В.О. Дыхание растений / В.О. Джеймс; пер. с англ. М. Н. Запрометова и О. А. Павлиновой; под ред. и с предисл. А.А. Ничипоровича. – М.: Изд. иностр. лит., 1956. - 439 с.
25. Доронин, А.Ф. Обеспечение контроля безопасности пищевых продуктов – одна из важнейших задач пищевой промышленности / А.Ф. Доронин, Т.В. Павлова, М.В. Балаханов [и др.] // Пищевая промышленность. – 2013. - № 5. С. 14-17.
26. Донченко, Л. В. Безопасность пищевой продукции / Л. В. Донченко, В. Д. Надыкта. – М.: ДеЛи принт, 2007. – 539 с.
27. Зенина, М.А. Идентификация винодельческой продукции на присутствие спиртов и сахаров невиноградного происхождения / М.А. Зенина // Наука и современность: сбор. статей научно-практ. конф. - Уфа: Аэтерна, 2015. - Ч. 1.– С. 21-23.
28. Зенина, М.А. Исследование динамики физико-химических показателей в процессе брожения при получении красных столовых виноматериалов / М.А. Зенина // Фундаментальные и прикладные научные исследования: сбор. статей Междунар. научно-практ. конф. – Уфа: Аэтерна, 2015. - Ч. 2. - С. 47-51.
29. Зенина, М.А. Особенности биологического фракционирования стабильных изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в винограде, произрастающем в южных регионах России / М.А. Зенина, А.Ю. Колеснов, Т.И. Гугучкина [и др.] // Развитие пищевой и перерабатывающей промышленности России: кадры и наука: сбор. Междунар. конф. – М.: МГУПП, 2017. – С. 100-102.

30. Зякун, А.М. Теоретические основы изотопной масс-спектрометрии в биологии / А.М. Зякун. - Пушино: Фотон-век, 2010. - 224 с.
31. Ивлев, А.А. Распределение ^{13}C в углеводах и механизм фотосинтеза / Известия ТСХА. - 2011. - № 2. – С. 27-50.
32. Иванченко, В.И. Рекомендации по размещению промышленных посадок столового винограда в зависимости от его сортового состава и агроэкологических условий местности в АР Крым / В.И. Иванченко, Н.В. Баранова, Р.Г. Тимофеев [и др.] // Ялта: НИВиВ «Магарач», 2011. – 34 с.
33. Калабин, Г.А. Комплексный $2\text{H}/1\text{H}$ ЯМР-скрининг дейтерия в компонентах водно-органических растворов / Г.А. Калабин, В.А. Ивлев, Н.А. Комаров [и др.] // Аналитика. – 2018. - № 2 (39). – С. 42-48.
34. Климат Ростовской области [Электронный ресурс] – Режим доступа: http://trasa.ru/region/rostovskaya_clim.html, свободный.
35. Колеснов, А.Ю. Биохимические системы в оценке качества продуктов питания / А.Ю. Колеснов. - М.: Пищевая промышленность, 2000. - 416 с.
36. Колеснов, А.Ю. Контроль подлинности и качества винодельческой продукции. Часть 3. Метод IRMS/SIRA в исследовании состава стабильных изотопов углерода в компонентах винограда и винодельческой продукции Крыма / А.Ю. Колеснов, Н.М. Агафонова // Контроль качества продукции. - 2016. - № 6. – С. 45-53.
37. Колеснов, А.Ю. Контроль подлинности и качества винодельческой продукции. Часть 3 (окончание). Метод IRMS/SIRA в исследовании состава стабильных изотопов углерода в компонентах винограда и винодельческой продукции Крыма / А.Ю. Колеснов, Н.М. Агафонова // Контроль качества продукции. - 2016. - № 7. – С. 39-45.
38. Колеснов, А. Аналитическая и экспертная оценка винодельческой продукции на присутствие сахаров и спиртов невиноградного происхождения. Ч. 1 / А. Колеснов, И. Филатова, О. Малошицкая [и др.] // Напої. Технології та Інновації (Напитки. Технологии и Инновации). - 2015. - № 10. – С. 48-51.

39. Колеснов, А. Аналитическая и экспертная оценка винодельческой продукции на присутствие сахаров и спиртов невиноградного происхождения. Ч. 2 / А. Колеснов, И. Филатова, О. Малошицкая [и др.] // Напої. Технології та Інновації (Напитки. Технологии и Инновации). - 2015. - № 11. – С. 54-57.

40. 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.

41. 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.

42. Колеснов, А. Методические и экспертные вопросы оценки винодельческой продукции на присутствие сахаров и спиртов невиноградного происхождения / А. Колеснов, И. Филатова, О. Малошицкая [и др.] // Виноделие и виноградарство. – 2014. - № 6. – С. 4-11.

43. Колеснов, А.Ю. Масс-спектрометрия стабильных изотопов кислорода $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ в винодельческой продукции для установления ее подлинности / А.Ю. Колеснов, И.А. Филатова, Д.Г. Задорожная [и др.] // Виноделие и виноградарство. – 2012. - № 6. – С. 10-15.

44. 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.

45. Колеснов, А.Ю. Научные и экспертные аспекты обеспечения противодействия обороту фальсифицированной пищевой продукции растительного происхождения / А.Ю. Колеснов, И.А. Филатова, О.А.

Малошицкая [и др.] // Антиконтрафакт 2015: сбор. матер. III Междунар. форума. – Минск, 2015. – С. 52-53.

46. 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.

47. Колеснов, А.Ю. Контроль подлинности и качества винодельческой продукции. Часть 1. Обзор методов / А.Ю. Колеснов, Н.М. Агафонова // Контроль качества продукции. – 2016. – № 4. – С. 35-39.

48. Колеснов, А.Ю. Контроль подлинности и качества винодельческой продукции. Часть 2. Обзор зарубежных исследований / А.Ю. Колеснов, Н.М. Агафонова // Контроль качества продукции. – 2016. – № 5. – С. 46-54.

49. Колеснов, А.Ю. Хромато-масс-спектрометрия GC-IRMS/SIRA стабильных изотопов углерода $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ в летучих органических соединениях / А.Ю. Колеснов, С.Р. Цимбалаев, Е.П. Шольц-Куликов [и др.] // Аналитика. – 2018. – Т. 8. – № 3(40). – С. 264-272.

50. Кретович, В.А. Основы биохимии растений / В.А. Кретович. – М.: Высшая школа, 1964. – 584 с.

51. Куприянов, А.В. Система обеспечения качества и безопасности пищевой продукции / А.В. Куприянов // Вестник ОГУ. – 2014. – № 3 (164). – С. 164-167.

52. Методы технохимического контроля в виноделии; под ред. В.Г. Гержиковой. – 2-е изд. – Симферополь: Таврида, 2009. – 304 с.

53. Министерство сельского хозяйства Российской Федерации / Виноградарство и виноделие: стратегия роста: матер. конф. Золотая осень 2017 [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://goldenautumn.moscow/o-vystavke/arkhiv-vystavki/8-obshchaya-informatsiya/280-delovaya-programma-2#>, свободный.

54. Муратшин, А.М. Научно-техническое обоснование системы обеспечения качества и безопасности алкогольсодержащей продукции из различных видов растительного сырья: автореф. дис. ...д-ра техн. наук: 05.18.01, 05.18.15 /

Муратшин Амран Нигранович; Моск. гос. ун-т технол. и упр. – Москва, 2005. – 54 с.

55. Никаноров, А.М. Стабильные изотопы в гидрохимии / А.М. Никаноров, Ю.А. Федоров. – Л.: Гидрометеиздат, 1988. – 246 с.

56. Николаева, М.А. Идентификация и обнаружение фальсификации продовольственных товаров: учеб. пособие для студентов высших учебных заведений / М.А. Николаева, М.А. Положишникова. - М.: Форум, Инфра-М, 2009. – 463 с.

57. Оганесянц, Л.А. Вариации отношений изотопов углерода этанола вин в зависимости от географического положения виноградников / Л.А. Оганесянц, Л.А. Панасюк, Е.А. Кузьмина [и др.] // Магарац. Виноделие и виноградарство. – 2017. - № 4. – С. 38-40.

58. Оганесянц, Л.А. Фальсификаты винодельческой продукции: методы выявления / Л.А. Оганесянц // Контроль качества продукции. - 2017. - № 7. – С. 8-11.

59. Оганесянц, Л.А. Изотопные характеристики этанола вин из российского винограда / Л.А. Оганесянц, Л.А. Панасюк, Е.А. Кузьмина [и др.] // Виноделие и виноградарство. - 2015.- № 4. – С. 8-13.

60. Оганесянц, Л.А. Определение экзогенной воды в винах методом изотопной масс-спектрометрии / Л.А. Оганесянц, Л.А. Панасюк, Е.А. Кузьмина [и др.] // Виноделие и виноградарство. – 2013.- № 5. - С. 22-24.

61. О безопасности пищевой продукции: Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 021/2011. Утвержден 09.12.2011 [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/902320560>, свободный.

62. О ведении реестра виноградных насаждений от 15.11.2016 г. № 1195 [Электронный ресурс] – Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_207392/, свободный.

63. О государственном регулировании производства и оборота этилового спирта, алкогольной и спиртосодержащей продукции и об ограничении потребления (распития) алкогольной продукции: Федеральный закон от

22.11.1995 N 171-ФЗ [Электронный ресурс] – Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_8368/, свободный.

64. О защите прав потребителей: Федеральный закон от 07.02.1992 г. № 2300-1 [Электронный ресурс] – Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_305/, свободный.

65. О качестве и безопасности пищевых продуктов: Федеральный закон от 02.01.2000 г. N 29-ФЗ [Электронный ресурс] – Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_25584/, свободный.

66. О концепции реализации государственной политики по снижению масштабов злоупотребления алкогольной продукцией и профилактике алкоголизма среди населения РФ на период до 2020 года. Распоряжение правительства РФ от 30 декабря 2009 г. № 2128. [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://base.garant.ru/12172220/>, свободный.

67. О виноградарстве и виноделии в Российской Федерации" (ред., внесенная в ГД ФС РФ, текст по состоянию на 16.10.2019): проект Федерального закона N 815115-7 [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://sozd.duma.gov.ru/download/22706347-FD2F-4979-8258-53ADFA0F3AA6>, свободный.

68. Панасюк, А.Л. Исследование изотопных характеристик кислорода водной компоненты винодельческой продукции / А.Л. Панасюк, Л.А. Оганесянц, Е.И. Кузьмина // Виноделие и виноградарство. - 2016. – № 6. – С. 4-6.

69. Погода и климат [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://www.pogodaiklimat.ru>, свободный.

70. Республика Дагестан. География и климат [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://www.dagestanrsp.ru/geography/>, свободный.

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

72. Рогинский, С.З. Изотопы в биохимии / С.З. Рогинский, С.Э. Шноль. - М.: Акад. наук СССР, 1963. – 379 с.

73. Сборник международных методов анализа и оценки вин и сусел; под ред. Н.А. Мехузла. - М.: Пищевая промышленность, 1993. – 84 с.

74. Семёнов, А. Изотопная «Дактилоскопия» для Шерлока Холмса / А. Семёнов // Наука и жизнь. – 2011. - № 5. – С. 62-65.

75. Система земледелия в садоводстве и виноградарстве Краснодарского края; под общ. ред. Е.А. Егорова. – Краснодар: ФГБНУ СКЗНИИСиВ, 2015. – 241 с.

76. Скоробогатов, М.В. Особенности развития винодельческой отрасли России в современных условиях / М.В. Скоробогатов, А.Г. Захарова // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Экономика и экологический менеджмент. – 2014. – № 1. – 10 с.

77. Скульский, Н.А. Различия в поведении стабильных и радиоактивных изотопов водорода и углерода в биосистемах / Н.А. Скульский, О.Б. Лысенко, Ю.Н. Демихов [и др.] // Тез. докл. XIX симпозиума по геохимии изотопов им. Академика А.П. Виноградова. - М.: Акварель, 2010. – С. 359-360.

78. Стратегия развития пищевой и перерабатывающей промышленности Российской Федерации на период до 2020 года: распоряжение правительства РФ от 17 апреля 2012 г. № 559-р [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://legalacts.ru/doc/rasporjazhenie-pravitelstva-rf-ot-17042012-n-559-r/>, свободный.

79. Талибова, А.Г. Исследование стабильных изотопов легких элементов для оценки качества и безопасности продуктов / А.Г. Талибова, А.Ю. Колеснов // Пищевая промышленность. - 2010. - № 5. - С. 37-39.

80. Талибова, А.Г. Исследование стабильных изотопов для оценки качества и безопасности пищевых продуктов. Ч. 1. Научные основы методологии / А.Г. Талибова, А.Ю. Колеснов // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2010. - № 9. – С. 35-38.

81. Талибова, А.Г. Исследование стабильных изотопов для оценки качества и безопасности пищевых продуктов. Ч. 2. Углерод / А.Г. Талибова, А.Ю. Колеснов // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2010. - № 12. – С. 51-55.

82. Третьяков, Н.Н. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений: учеб. для студ. вузов / Н.Н. Третьяков, Е.И. Кошкин, Н.М. Макрушин [и др.]; под. ред. Н.Н. Третьякова. - 2-е изд. перераб. и доп. – М: Колосс, 2005. – 654 с.

83. Федеральная служба государственной статистики [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://www.gks.ru/>, свободный.

84. Ферронский, В.И. Изотопия гидросферы / В.И. Ферронский, В.А. Поляков – М.: Наука, 1983. - 277 с.

85. Фор, Г. Основы изотопной геологии / Г. Фор. – М.: Мир, 1989. –590 с.

86. Хёфс, Й. Геохимия стабильных изотопов/ Й. Хёфс; пер. с англ. Л.Н. Гриненко. – М.: Мир, 1983. – 198 с.

87. Хуршудян, С.А. Определение фальсификации вина органолептическим методом / С.А. Хуршудян, Л.Н. Харламова // Контроль качества продукции. – 2017. - № 7. – С.12-14.

88. Шольц-Куликов, Е.П. Технология переработки винограда / Е.П. Шольц-Куликов, В.Ф. Пономарев. – М.: Агропромиздат, 1990. – 446 с.

89. Эмсли, Д. Элементы / Д. Эмсли; пер. с англ. Е.А. Краснушкиной. - М.: Мир, 1993. - 255 с.

90. Якуба, Ю.Ф. Виноградные вина, проблемы оценки их качества и региональной принадлежности / Ю.Ф. Якуба, А.А. Каунова, З.А. Темердашев [и др.] // Аналитика и контроль. – 2014. – Т. 18. - № 4. – С. 344-372.

91. Adami, L. Geographic origin of southern Brazilian wines by carbon and oxygen isotope analyses / L. Adami, S.V. Dutra, A.R. Marcon [et al.] // Rapid Commun. Mass Spectrom. - 2010. – Vol. 24. – N 20. - P. 2943-2948.

92. Akamatsu, F. Application of carbon and hydrogen stable isotope analyses to detect exogenous citric acid in Japanese apricot liqueur / F. Akamatsu, T. Oe, T. Hashiguchi [et al.] // Food Chemistry. - 2017. – N 228. – P. 297-300.

93. Bauer-Christoph, C. Assignment of raw material and authentication of spirits by gas chromatography, hydrogen- and carbon-isotope ratio measurements. I. Analytical methods and results of a study of commercial products / C. Bauer-Christoph,

H. Wachter, N. Christoph [et al.] // Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -forschung. - 1997. - Vol. 224. – P. 445-452.

94. Bender, M.M. Mass spectrometric studies of carbon 13 variations in corn and other grasses / M.M. Bender // Radiocarbon. - 1968. – Vol. 10. – N 2. – P. 468-472.

95. Bergner, K.-G. Wein Kompendium / K.-G. Bergner, E. Lemperle // Stuttgart-Leipzig: S. Hirzel Verlag, 2001. - P. 242-245.

96. Cabañero, A.I. Simultaneous stable carbon isotopic analysis of wine glycerol and ethanol by liquid chromatography coupled to isotope ratio mass spectrometry / A.I. Cabañero, J.L. Recio, M. Rupérez // J. Agric. Food Chem. - 2010. - Vol. 58. – N 2. – P. 722-728.

97. Cabañero, A.I. Isotope ratio mass spectrometry coupled to liquid and gas chromatography for wine ethanol characterization / A.I. Cabañero, J.L. Recio, M. Rupérez // Rapid Commun. Mass Spectrom. - 2008. – Vol. 22. – P. 3111-3118.

98. Calvin, M. The photosynthesis of carbon compounds / M. Calvin, J.A. Bassham // Science. – 1962. – Vol. 137. – N 3526. – P. 273-274.

99. Calderone, G. Analysis of isotopic ratios for the detection of illegal watering of beverages / G. Calderone, C. Guillou // Food Chemistry. - 2008. – Vol. 106. - N 4. - P. 1399-1405.

100. Camin, F. Stable isotope techniques for verifying the declared geographical origin of food in legal cases / F. Camin, M. Boner, L. Bontempo [et al.] // Trends in Food Science & Technology. - 2017. – Vol. 61. – P. 176-187.

101. Camin, F. Control of wine vinegar authenticity through $\delta^{18}\text{O}$ analysis / F. Camin, L. Bontempo, M. Perini [et al.] // Food Control. – 2013. – Vol. 29. – N 1. – P. 107-111.

102. Christoph, N. Possibilities and limitations of wine authentication using stable isotope and meteorological data, data banks and statistical tests. Part 1: Wines from Franconia and Lake Constance 1992 to 2001 / N. Christoph, A. Rossmann, S. Voerkelius // Mitteilungen Klosterneuburg. - 2003. – N 53. – P. 23-40.

103. Christoph, N. 25 Years authentication of wine with stable isotope analysis in the European Union – Review and outlook / N. Christoph, A. Hermann, H. Wachter //

Progress and Responsibility: 38th World Congress of Vine and Wine. - BIO Web of Conferences, 2015. – Vol. 5. - N 02020. – 8 p.

104. Christoph, N. Possibilities and limitations of wine authentication using stable isotope ratio analysis and traceability. Part 2: Wines from Hungary, Croatia and other European countries / N. Christoph, G. Barátossy, V. Kubanovic [et al.] // Mitteilungen Klosterneuburg. - 2004. – N 54. – P. 144-158.

105. Christoph, N. Wine authentication using stable isotope ratio analysis: significance of geographic origin, climate and viticultural parameters / N. Christoph, A. Rossmann, C. Schlicht [et al.] // Authentication of Food and Wine. - 2006. – Vol. 952. – Chapter 11. – P. 166-179.

106. Compendium of International methods of Wine and Must Analysis of the International Organisation of Vine and Wine (OIV) / Paris: OIV, 2017. - Vol. 1-2. - 1283 p.

107. Compendium of international methods of analysis – International Organisation of vine and wine. Method OIV-MA-AS2-12 (Type II method). Method for $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ isotope ratio determination of water in wines and must. Resolution OIV-Oeno 353/2009. – 10 p.

108. Compendium of international methods of analysis – International Organisation of vine and wine. Method OIV-MA-AS312-06 (Type II method). Determination by isotope ratio mass spectrometry $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ of wine ethanol or that obtained through the fermentation of musts, concentrated musts or grape sugar. Resolution OIV-Oeno 17/2001. – 12 p.

109. Compendium of international methods of analysis – International Organisation of vine and wine. Method OIV-MA-AS311-05 (Type II method). Determination of the deuterium distribution in ethanol derived from fermentation of grape musts, concentrated grape musts, grape sugar (rectified concentrated grape musts) and wines by application of nuclear magnetic resonance (SNIF-NMR/RMN-FINS). Resolution OIV-Oeno 426-2011. – 23 p.

110. Cornwell, W. Climate and soils together regulate photosynthetic carbon isotope discrimination within C3 plants worldwide / W. Cornwell, I.J. Wright, J. Turner [et al.] // *Global Ecology and Biogeography*. – 2018. – Vol. 27. – N 9. – P. 1056-1067.
111. Costinel, D. The impact of grape varieties to wine isotopic characterization / D. Costinel, R. Tudorache, R.E. Ionete [et al.] // *Analytical Letters*. - 2011. – N 44. – P. 2856-2864.
112. De Groot, P.A. Handbook of stable isotope analytical techniques / P.A. De Groot // *Delta Isotopes Consultancy*. – Belgium, 2009. - Vol II. – 1398 p.
113. Di Marco, G. Carbon isotope ratios ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) in fractions of field-grown grape / G. Di Marco, S. Grego, D. Tricoli [et al.] // *Physiol. Plant*. - 1977. – N 41. – P. 139-141.
114. Dinca, O.R. Regional and vintage discrimination of Romanian wines based on elemental and isotopic fingerprinting / O.R. Dinca, R.E. Ionete, D. Costinel [et al.] // *Food Analytical Methods*. – 2016. – Vol. 9. – N 8. – P. 2406-2417.
115. Dunbar, J. A Study of the factors affecting the $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ratio or the water of wine / J. Dunbar // *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* - 1982. – Vol. 174. – P. 355-359.
116. Dutra, S.V. Characterization of wines according the geographical origin by analysis of isotopes and minerals and the influence of harvest on the isotope values / S.V. Dutra, L. Adami, A.R. Marcon [et al.] // *Food Chemistry*. - 2013. - Vol. 141. – P. 2148-2153.
117. Dutra, S.V. Erratum to: Determination of the geographical origin of Brazilian wines by isotope and mineral analysis / S.V. Dutra, L. Adami, A.R. Marcon [et al.] // *Anal. Bioanal. Chem.* - 2011. – Vol. 401. – N 5. – P. 1571-1576.
118. Farquhar, G.D. Carbon isotope discrimination and photosynthesis / G.D. Farquhar, J.R. Ehleringer, K.T. Hubick // *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. - 1989. – Vol. 40. – N 1. - P. 503-537.
119. Farquhar, G.D. On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves / G.D. Farquhar, M.H. O'Leary, L.A. Berry // *Aust. J. Plant Physiol.* - 1982. – N 9. – P. 121-137.

120. Farquhar, G.D. A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species / G.D. Farquhar, S.V. Caemmerer, J.A. Berry // *Planta*. – 1980. – Vol. 149. – N 1. – P. 78-90.

121. Formerly the national climatic data center (NCDC) [Electronic resource] – Access mode: <https://www.ncdc.noaa.gov/isd/data-access>, свободный.

122. Gaudillere, J.-P. Carbon isotope composition of sugars in grapevine, an integrated indicator of vineyard water status / J.-P. Gaudillere, C. Van Leeuwen, N. Ollat // *Journal of Experimental Botany*. - 2002. - Vol. 53. – N 369. – P. 757-763.

123. Gensler, M. Isolation of the main organic acids from fruit juices and nectars for carbon isotope ratio measurements / M. Gensler, H.-L. Schmidt // *Analytica Chimica Acta*. – 1994. – N 299. – P. 231-237.

124. Ghidini, S. Stable isotopes determination in food authentication: a review / S. Ghidini, A. Ianieri, E. Zanardi [et al.] // *Ann. Fac. Medic. Vet. Di Parma*. - 2006. – Vol. XXVI. – P. 193-204.

125. Gilbert, A. Accurate quantitative isotopic ¹³C NMR spectroscopy for the determination of the intramolecular distribution of ¹³C glucose at natural abundance / A. Gilbert, V. Silvestre, R.J. Robins [et al.] // *Anal. Chem.* - 2009. – Vol. 81. – P. 8978-8985.

126. Godelmann, R. The impact of NMR spectroscopy for authenticity evaluation of wine and quantification of wine components – International collaborative trial and validation studies / R. Godelmann, C. Patz, R. Ristow [et al.] // *Progress and Responsibility: The 38th World Congress of Vine and Wine*. – Bio Web of Conferences. - 2015. – Vol. 5. – N 02022. – 5 p.

127. Godelmann, R. Quantitation of compounds in wine using ¹H NMR spectroscopy: description of the method and collaborative study / R. Godelmann, C. Kost, C.-D. Patz [et al.] // *AOAC International*. – 2016. – Vol. 99. – N 5. – P. 1295-1304.

128. Gómez-Alonso, S. Effect of irrigation and variety on oxygen (δ ¹⁸O) and carbon (δ ¹³C) stable isotope composition of grapes cultivated in a warm climate / S.

Gómez-Alonso, E. García-Romero // Australian Journal of Grape and Wine Research. - 2010. – Vol. 16. – P. 283-289.

129. Gremaud, G. Isotopic-spectroscopic Technique: Stable Isotope Ratio Mass Spectrometry (IRMS) / G. Gremaud, A. Hilker // Modern Techniques for Food Authentication // Academic Press Elsevier, 2008. - P. 269-320.

130. Guyon, F. Intrinsic ratios of glucose, fructose, glycerol and ethanol $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotopic ratio determined by HPLC-co-IRMS: toward determining constants for wine authentication / F. Guyon, L. Gaillard, M.-H. Salagoity [et al.] // Anal. Bioanal. Chem. - 2011. – N 401. – P. 1551-1558.

131. Guyon, F. Effects of must concentration techniques on wine isotopic parameters / F. Guyon, C. Douet, S. Colas [et al.] // J. Agric. Food Chem. - 2006. – Vol. 54. - N 26. - P. 9918-9923.

132. Guyon, F. Carbon-13 composition of bulk dry wines by irm-EA/MS and irm- ^{13}C NMR: An indicator of vine water status / F. Guyon, C. Van Leeuwen, L. Gaillard [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 02021. – 3 p.

133. Guyon, F. Comparative study of ^{13}C composition in ethanol and bulk dry wine using isotope ratio monitoring by mass spectrometry and by nuclear magnetic resonance as an indicator of vine water status / F. Guyon, C. Van Leeuwen, L. Gaillard [et al.] // Anal. Bioanal. Chem. - 2015. – N 407. – P. 9053-9060.

134. Herrero-Langreo, A. Mapping grapevine (*Vitis vinifera* L.) water status during the season using carbon isotope ratio ($\delta^{13}\text{C}$) as ancillary data / A. Herrero-Langreo, B. Tisseyre, J-P Goutouly [et al.] // Am. J. Enol. Vitic. - 2013. – Vol. 64. – N 3. – P. 307-315.

135. Holmberg, L. Wine fraud / L. Holmberg // International Journal of Wine Research. – 2010. - Vol. 2. - N 1. – P. 105-113.

136. Ingraham, N.L. Influence of weather on the stable isotopic ratios of wines: Tools for weather/climatic reconstruction // N.L. Ingraham, E.A. Caldwell // Journal of Geophysical Research. - 1999. – Vol. 104. – N D2. – P. 2185-2194.

137. Ishida-Fujii, K. Botanical and geographical origin identification of industrial ethanol by stable isotope analyses of C, H and O / K. Ishida-Fujii, S. Goto, R. Uemura [et al.] // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* - 2005. – Vol. 69. – N 11. – P. 2193-2199.

138. Jackson, R.S. *Wine Science. Principles and Applications.* / R.S. Jackson // Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New Yourk, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Sydney, Tokyo: Academic Press Elsevier, 2008. - P. 586-589.

139. Jahren, A.H. An isotopic method for quantifying sweeteners derived from corn and sugar cane / A.H. Jahren, C. Saudek, E. H Yeung [et al.] // *Am. J. Clin. Nutr.* - 2006. – N 84. – P. 1380-1384.

140. Jakubowski, N. Analysis of wines by ICP-MS: is the pattern of the rare earth elements a reliable fingerprint for the provenance? / N. Jakubowski, R. Brandt, D. Stuewer [et al.] // *Fresenius J. Anal. Chem.* – 1999. – Vol. 364. – N 5. – P. 424-428.

141. 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 [et al.] // *Genetics, Biotechnology and Sustainable Development in Safe Environment: The 6th International Conference of ESES.* - Egypt, 2015. – 1 p.

142. Kolesnov, A. Grapes from the geographical areas of the Black Sea: agro-climatic growing conditions and evaluation of stable isotopes compositions in scientific study / A. Kolesnov, N. Agafonova // *Vitiviniculture: technological advances to market challenges: The 39th World Congress of Vine and Wine: BIO Web of Conferences.* - 2016. – Vol. 7. – N 02004. – 7 p.

143. 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. – 8 p.

144. 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 and Steep Slope Viticulture. – Spain, 2018. – 9 p.

145. 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.

146. Koziet, J. Determination of the oxygen-18 and deuterium content of fruit and vegetable juice water. An European inter-laboratory comparison study / J. Koziet, A. Rossmann, G.J. Martin [et al.] // *Analytica Chimica Acta*. – 1995. – N 302. – P. 29-37.

147. Krueger, D.A. Stable isotope analysis by mass spectrometry / D.A. Krueger // *Food Authentication: London, Weinheim, New York, Tokyo, Melbourne, Madras: P.R. Ashurst and M.J. Dennis*. - 1998. - P. 14-35.

148. Magdas, D.A. Stable isotopes determination in some Romanian wines / D.A. Magdas, S. Cuna, G. Cristea [et al.] // *Isotopes in Environmental and Health Studies*. - 2012. - Vol. 48. – N 2. – P. 345-353.

149. Martin, G.J. Spatial and temporal dependence of the ^{13}C and ^{12}C isotopes of wine ethanols / G.J. Martin, J.-N. Thibault // *Radicalcarbon*. - 1995. - Vol. 37. – N 3. – P. 943-954.

150. Martin, G.J. Natural factors of isotope fractionation and the characterization of wines / G.J. Martin, C. Guillou, M.L. Martin [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* - 1988. – Vol. 36. – N 2. – P. 316-322.

151. Martin, G.G. Interpretation of combined ^2H SNIF/NMR and ^{13}C SIRA/MS. Analyses of fruit juices to detect added sugar / G.G. Martin, V. Hanote // *Journal of AOAC International*. – 1996. – Vol. 79. – N 1. – P. 62-72.

152. Medina, B. Wine authenticity / B. Medina // *Food authentication*. – Boston: Springer, 1996. – P. 60-107.

153. Morison, D.J. Strong amino-exchange liquid chromatography coupled with isotope ratio mass spectrometry using a liquiface interface / D.J. Morison, K. Taylor, T. Preston // *Rapid Commun. Mass Spectrom.* - 2010. – Vol. 24. – P. 1755-1762.

154. Muccio, Z. Isotope ratio mass spectrometry / Z. Muccio, G.P. Jackson // *The Analyst*. – 2009. – Vol. 134. – N 2. – P. 213-222.

155. Ortiz-Romero, C. A viability study of C-O isotope fingerprint for different geographical provenances of Spanish wine vinegars / C. Ortiz-Romero, R. Rios-Reina, M.L. Morales [et al.] // *European Food Research and Technology*. – 2018. – Vol. 244. – N 7. – P. 1159-1167.
156. Parker, I.G. Investigation into the use of carbon isotope ratios ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) of Scotch whisky congeners to establish brand authenticity using gas chromatography combustion-isotope ratio mass spectrometry / I.G. Parker, S.D. Kelly, M. Sharman [et al.] // *Food Chemistry*. – 1998. – Vol. 63. – N 3. – P. 423-428.
157. Pauthier, B. Water status modelling: impact of local rainfall variability in Burgundy (France) / B. Pauthier, L. Brillante, C. Van Leeuwen [et al.] // *The XI International Terroir Congress*. – Oregon, 2016. – P. 47-53.
158. Pereira, G.E. ^1H NMR metabolic fingerprints of grape berries produced in different plots in Bordeaux, France / G.E. Pereira, G. Hilbert, J.P. Gaudillère [et al.] // *The VII International Symposium on Grapevine Physiology and Biotechnology*. – California, 2004. – P. 257-264.
159. Pereira, G.E. ^1H NMR metabolic profiling of wines from three cultivars, three soil types and two contrasting vintages / G.E. Pereira, J.P. Gaudillère, C. Van Leeuwen [et al.] // *J. Int. Sci. Vigne Vin*. – 2007. – N 41. – P. 103-109.
160. Perini, M. The effect of stopping alcoholic fermentation on the variability of H, C and O stable isotope ratios of ethanol / M. Perini, R. Guzzon, M. Simoni [et al.] // *Food Control*. - 2014. – N 40. - P. 368–373.
161. Perini, M. $\delta^{18}\text{O}$ of ethanol in wine and spirits for authentication purposes / M. Perini, F. Camin // *Journal of Food Science*. – 2013. – Vol. 78. – N 6. – P. 839-844.
162. Pîrnău, A. Analysis of some Romanian wines by ^2H NMR and IRMS / A. Pîrnău, M. Bogdan, D.A. Măgdaş // *Food Biophysics*. - 2013. – N 8. – P. 24-28.
163. Raco, B. O-H-C isotope ratio determination in wine in order to be used as a fingerprint of its regional origin // B. Raco, E. Dotsika, D. Poutoukis [et al.] // *Food Chemistry*. - 2015. – N 168. – P. 588-594.

164. Rapeanu, G. Possibilities to asses the wines authenticity / G. Rapeanu, C. Vicol, C. Bichescu // Innovative Romanian Food Biotechnology. - 2009. – Vol. 5. – P. 1-9.
165. Rau, Y.-H. Using $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ isotopic ratio analysis to differentiate between rice spirits made from rice and cane molasses / Y.-H. Rau, G.-P. Lin, W.-S. Chang [et al.] // Journal of Food and Drug Analysis. - 2005. – Vol. 13. – N 2. – P. 159-162.
166. Rojas, J.M.M. Control of oenological products: discrimination between different botanical sources of L-tartaric acid by isotope ratio mass spectrometry / J.M.M. Rojas, S. Cosofret, F. Reniero [et al.] // Rapid Commun. Mass Spectrom. - 2007. – Vol. 21. – P. 2447-2450.
167. Römisch, U. Characterization and determination of the geographical origin of wines. Part III: multivariate discrimination and classification methods / U. Römisch, H. Jäger, X. Capron [et al.] // European Food Research and Technology. – 2009. – Vol. 230. – N 31. – P. 31-45.
168. Rossmann, A. Stable carbon isotope content in ethanol of EC data bank wines from Italy, France and Germany / A. Rossmann, H.-L. Schmidt, F. Reniero [et al.] // Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und forschung. - 1996.- Vol. 203. - P. 293-301.
169. Rossmann, A. Stable isotope databases for European food products / A. Rossmann // Fingerprinting methods fort he indentification of timber origins: The international workshop. – Germany, 2007. - P. 39-46.
170. Schlesier, K. Characterization and determination of the geographical origin of wines. Part I: overview / K. Schlesier, C. Fauhl-Hassek, M. Forina [et al.] // European Food Research and Technology. - 2009. – Vol. 230. - N 1. – P. 1-13.
171. Sobotovich, E.V. Role of isotopes in the biosphere / E.V. Sobotovich, I.V. Florinsky, O.B. Lysenko O.B. [et al.] // Man and the Geosphere. - New York: Nova Science Publishers, 2010. - P. 33-68.
172. Smeyers-Verbeke, J. Characterization and determination of the geographical origin of wines. Part II: Descriptive and inductive univariate statistics/ J. Smeyers-

Verbeke, H. Jäger, S. Lanteri [et al.] // Journal European Food Research and Technology. - 2009. – Vol. 230. – P. 15-29.

173. Smith, B.N. Two categories of $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios for higher plants / B.N. Smith, S. Epstein // Plant Physiol. - 1971. – N 47. – P. 380-384.

174. Spitzke, M.E. Determination of the $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios of ethanol and higher alcohols in wine by GC-C-IRMS analysis / M.E. Spitzke, C. Fauhl-Hassek // Eur. Food Res. Technol. - 2010. – Vol. 231. – P. 247-257.

175. Spraul, M. Wine analysis to check quality and authenticity by fully-automated ^1H -NMR / M. Spraul, M. Link, H. Schaefer [et al.] // Progress and Responsibility: The 38th World Congress of Vine and Wine. – Bio Web of Conferences. - 2015. – Vol. 5. – N 02022. – 6 p.

176. Sun, D.-W. Modern Techniques for Food Authentication / D.-W. Sun // Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Sydney, Tokyo: Academic Press Elsevier, 2008. – 805 p.

177. Thermo Electron Corporation. Finnigan Elemental Analyzer Operating Manual. Carbon Measurement. - 2010. – P. 5-1 – 5-20.

178. 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.

179. Thomas, F. Improved characterization of the botanical origin of sugar by carbon-13 SNIF-NMR applied of ethanol / F. Thomas, C. Randet, A. Gilbert [et al.] // J. Agric. Food Chem. - 2010. – Vol. 58. – P. 11580-11585.

180. Thomas, F. ^{18}O Internal referencing method to detect water addition in wines and fruit juices: interlaboratory study / F. Thomas, E. Jamin, D. Hammond // Journal of AOAC International. – 2013. – Vol. 96. – N 3. – P. 615-624.

181. Troughton, J.H. Temperature effects on the carbon-isotope ratio of C_3 , C_4 and crassulacean-acid-metabolism (CAM) plants / J.H. Troughton, K.A. Card // Planta. - 1975. – Vol. 123. – N 2. – P. 185-190.

182. Van Leeuwen, C. Vine water status is a key factor in grape ripening and vintage quality for red Bordeaux wine. How can it be assessed for vineyard

management purposes? / C. Van Leeuwen, O. Tregoat, X. Choné [et al.] // J. Int. Sci. Vigne Vin. - 2009. – N 43. – P. 121-134.

183. Van Leeuwen, C. The assessment of vine water uptake conditions by $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ discrimination in grape sugar / C. Van Leeuwen, J-P Gaudillere, O. Tregoat // J. Int. Sci. Vigne Vin. - 2001. – N 35. – P. 195-205.

184. Van Leeuwen, C. The impact of climate change on viticulture and wine quality / C. Van Leeuwen, P. Darriet // Journal of Wine Economics. - 2016. – Vol. 11. – N 1. – P. 150-167.

185. Van Leeuwen, C. Soil-related terroir factors: a review / C. Van Leeuwen, J.-P. Roby, L. de Reséguier // OENO one. – 2018. – Vol. 52. – N 2. – P. 173-188.

186. Versini, G. Stable isotope analysis in grape products: ^{13}C -based internal standardization methods to improve the detection of some types of adulterations / G. Versini, F. Camin, M. Ramponi [et al.] // Analytica Chimica Acta. - 2006. – Vol. 563. – P. 325-330.

187. Wachter, H. Verifying authenticity of wine by Mahalanobis distance and hypothesis testing of stable isotope pattern – a case study using the EU wine databank / H. Wachter, N. Cristoph, S. Seifert // Mitteilungen klosterneuburg. - 2009. - N 59. - P. 237-249.

188. West, J.B. Geography and vintage predicted by a novel GIS model of wine $\delta^{18}\text{O}$ // J.B. West, J.R. Ehleringer, T.E. Cerling // J. Agric. Food Chem. - 2007. – Vol. 55. – N 17. – P. 7075-7083.

189. Werner, R.A. Referencing strategies and techniques in stable isotope ratio analysis / R.A. Werner, W.A. Brand // Rapid Commun. Mass Spectrom. - 2001. – N 15. – P. 501-519.

190. Winterova, R. Assessment of the authenticity of fruit spirits by gas chromatography and stable isotope ratio analyses / R. Winterova, R. Mikulikova, J. Mazac [et al.] // Czech J. Food Sci. - 2008. – Vol. 26. - N 5. – P. 368-375.

191. Wingate, L. Photosynthetic carbon isotope discrimination and its relationship to the carbon isotope signals of stem, soil and ecosystem respiration / L. Wingate, J. Ogée, R. Burlett [et al.] // New Phytologist. - 2010. – N 188. – P. 576-589.

192. Wood, R. Quality in the food analysis laboratory / R. Wood, A. Nilsson, H. Wallin // Cambridge, Letchworth: The Royal Society of Chemistry, 1998. - P. 135-147.
193. Wuerdig, G. Chemie des Weines / G. Wuerdig, R. Woller // Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer, 1989. - P. 46-52.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Таблица А1 – Вина и виноматериалы, изготовленные российскими виноградо-винодельческими хозяйствами

№	Наименование	Тип вина	Регион происхождения	Изготовитель	Сорт винограда, из которых изготовлено вино/год урожая
1	2	3	4	5	6
1	Вино «Абрау купаж темный»	Столовое	Ростовская область	ОАО «Миллеровский винзавод»	-
2	Вино «Matarcha»	Столовое	Краснодарский край	ООО «ТВК-Кубань»	-
3	Вино «Chateau Tamagne»	ВЗМП	Краснодарский край	ООО «Кубань-Вино»	Каберне
4	Вино «Chateau L'Éclair»	Столовое	Краснодарский край	ООО «Таманская винная компания - Кубань»	Каберне
5	Вино «Каберне Таманское»	Столовое	Краснодарский край	ООО «Кубань-вино»	Каберне
6	Вино «Каберне Фанагории. Номерной резерв»	ВЗГУ	Краснодарский край	ОАО «АПФ «Фанагория»	Каберне Совиньон / урожай 2014 г.
7	Вино «Геленджик»	Столовое	Краснодарский край	ЗАО АПК «Геленджик»	-
8	Виноматериал красный «Саперави»	Столовый	Республика Крым, г. Севастополь	ООО «Качинский+»	Саперави / урожай 2014 г.
9	Виноматериал красный «Каберне Качинское»	Столовый	Республика Крым, г. Севастополь	ООО «Качинский+»	Каберне Совиньон / урожай 2014 г.
10	Виноматериал красный «Каберне сортовое»	Столовый	Республика Крым, г. Алушта	ГП «Таврида»	Каберне / урожай 2014 г.
11	Виноматериал красный «Каберне Качинское»	Столовый	Республика Крым, г. Севастополь	ООО «Качинский+»	Каберне Совиньон / урожай 2016 г.
12	Виноматериал красный «Каберне Качинское»	Столовый	Республика Крым, г. Севастополь	А/ф «Черноморец»	Каберне Совиньон / урожай 2016 г.

Продолжение таблицы А1

1	2	3	4	5	6
13	Виноматериал белый «Алиготе Качинское»	Столовый	Республика Крым, г. Севасто- поль	ООО «Качинский+»	Алиготе / урожай 2014 г.
14	«Jean Bourgeois Merlot»	Столовое	г. Клин	«Group Castel»	Мерло
15	«Бастардо Инкерман»	Столовое	Республика Крым, г. Севасто- поль	«Инкерманский завод марочных вин»	Урожай 2016 г.
16	Вино «Каберне»	Столовое	Республика Крым, г. Севасто- поль	«Инкерманский завод марочных вин»	Урожай 2016 г.
17	Вино «Мерло Качинское»	ВЗГУ	Республика Крым, Бах- чисарайский р-н	«Инкерманский завод марочных вин»	Урожай 2016 г.
18	Вино «Алиготе»	ВЗГУ	Республика Крым, Бах- чисарайский р-н	«Инкерманский завод марочных вин»	Урожай 2016 г.
19	Вино «Каберне Качинское»	ВЗМП	Республика Крым, г. Севасто- поль	«Инкерманский завод марочных вин»	Урожай 2016 г.
20	Вино «Совиньон Крымский»	ВЗМП	Республика Крым, г. Севасто- поль	«Инкерманский завод марочных вин»	Урожай 2016 г.
21	Вино «Саперави Инкерман»	ВЗГУ	Республика Крым, Бах- чисарайский р-н	«Инкерманский завод марочных вин»	Урожай 2016 г.
22	Вино «Каберне Инкерман»	ВЗГУ	Республика Крым, Бах- чисарайский р-н	«Инкерманский завод марочных вин»	Урожай 2017 г.
23	Вино «Шардоне Инкерман»	ВЗГУ	Республика Крым, Бах- чисарайский р-н	«Инкерманский завод марочных вин»	Урожай 2017 г.
24	Вино «Жемчужина Инкермана»	ВЗМП	Республика Крым, г. Севасто- поль	«Инкерманский завод марочных вин»	Урожай 2015 г.

Продолжение таблицы А1

1	2	3	4	5	6
25	Вино «Рубин Херсонеса»	Столовое	Республика Крым, Бах- чисарайский р-н	«Инкерманский завод марочных вин»	Урожай 2016 г.
26	Вино «Мерло-Каберне»	Столовое	Республика Крым, Бах- чисарайский р-н	«Инкерманский завод марочных вин»	Урожай 2016 г.
27	Виноматериал красный «Каберне»	Столовый	Республика Крым, г. Севасто- поль	«Инкерманский завод марочных вин»	Урожай 2016 г.
28	Виноматериал красный «Каберне»	Столовый	Республика Крым, г. Севасто- поль	«Инкерманский завод марочных вин»	Урожай 2016 г.
29	Виноматериал красный «Каберне»	Столовый	Республика Крым, г. Севасто- поль	«Инкерманский завод марочных вин»	Урожай 2016 г.
30	Виноматериал красный «Каберне»	Столовый	Республика Крым, г. Севасто- поль	«Инкерманский завод марочных вин»	Урожай 2016 г.
31	Виноматериал красный «Мерло»	Столовый	Республика Крым, г. Севасто- поль	«Инкерманский завод марочных вин»	Урожай 2016 г.
32	Виноматериал красный «Мерло»	Столовый	Республика Крым, г. Севасто- поль	«Инкерманский завод марочных вин»	Урожай 2016 г.
33	Виноматериал красный «Каберне- Совиньон»	Столовый	Республика Крым, г. Севасто- поль	«Инкерманский завод марочных вин»	Урожай 2016 г.
34	Виноматериал красный «Бастардо»	Столовый	Республика Крым, г. Севасто- поль	«Инкерманский завод марочных вин»	Урожай 2015 г.
35	Виноматериал красный «Каберне Качинское»	Столовый	Республика Крым, г. Севасто- поль	ООО «Качинский+»	Урожай 2017 г.
36	Виноматериал красный «Саперави Крымское Классическое»	Столовый	Республика Крым, г. Севасто- поль	ООО «Качинский+»	Урожай 2017 г.

Таблица А2 – Вина и виноматериалы, изготовленные в странах СНГ и ближнего зарубежья

№	Наименование	Тип вина	Регион происхождения	Изготовитель	Сорта винограда, из которых изготовлено вино/год урожая
1	2	3	4	5	6
1	Вино «Чегем»	Столовое	Республика Абхазия	ООО «Вина и Воды Абхазии»	Каберне Совиньон, Мерло, Саперави
2	Вино «Вагрус»	Столовое	Республика Адыгея	ООО «ВАГРУС»	-
3	Вино «Саперави»	Столовое	Республика Грузия	ООО «Дом Грузинского вина»	Саперави
4	Вино «Мукузани»	ВЗМП	Республика Грузия, район Гурджаани	ООО «Винная Компания Дугладзе»	Саперави / урожай 2014 г.
5	Вино «Каберне»	ВЗГУ	Республика Молдова, микрорайон Казаклия	СП «Казайак Вин»	Каберне Совиньон / урожай 2011 г.
6	Вино «Karas»	Столовое	Республика Армения	«Armavir Vineyards»	Сира, Таннат, Каберне фран
7	Винноматериал ординарный сортовой красный «Каберне»	Столовый	Республика Молдова	«Vest Resurs»	Каберне / урожай 2016 г.
8	Винноматериал ординарный сортовой красный «Бастардо»	Столовый	Украина, Одесская область	-	Бастардо / урожай 2016 г.
9	Винноматериал ординарный сортовой	Столовый	Украина, Одесская область	-	-
10	«Proshyan»	Столовое	Республика Армения	«Brandy Proshyan factory»	-
11	Винноматериал ординарный сортовой белый «Мускат»	Столовый	Украина	«ВАТ Октябрьский»	Мускат / урожай 2016 г.
12	Винноматериал ординарный белый	Столовый	Украина	«ТОВ Шампань України»	Урожай 2016 г.
13	Винноматериал белый	Столовый	Украина	«Агрофирма Белозерский»	Урожай 2016 г.

Продолжение таблицы А2

1	2	3	4	5	6
14	Виноматериал ординарный сортовой крас- ный «Каберне»	Столовый	Украина	«ПП Бастардо»	Каберне Совиньон / урожай 2016 г.
15	Виноматериал ординарный сортовой крас- ный «Каберне»	Столовый	Украина	«ВАТ Октябрьский»	Каберне Совиньон / урожай 2016 г.
16	Виноматериал ординарный сортовой красный «Пино Нуар»	Столовый	Украина	«ПП Бастардо»	Пино Нуар / урожай 2016 г.
17	Виноматериал ординарный красный	Столовый	Украина	«ВАТ Октябрьский»	Урожай 2016 г.
18	Виноматериал ординарный красный	Столовый	Республика Молдова	«Tartcomvin S.R.L.»	Урожай 2016 г.
19	Вино «Цинандали»	ВЗМП	Республика Грузия	«Ахалшени 2005»	Ркацители и Мцване
20	Вино «Reserve»	Столовое	Республика Армения	«Brandy Proshyan factory»	Алиготе / урожай 2012 г.
21	Виноматериал белый	Столовый	Украина	«Шампань Украины»	-
22	Виноматериал ординарный сортовой белый «Мускат»	Столовый	Украина, Одесская область	-	Урожай 2016 г.
23	Виноматериал ординарный сортовой белый «Мускат»	Столовый	Республика Молдова	«Salcuta»	Урожай 2016 г.
24	Виноматериал ординарный сортовой крас- ный «Каберне»	Столовый	Республика Молдова	«Vest Resurs»	Урожай 2016 г.
25	Виноматериал ординарный сортовой белый «Совиньон»	Столовый	Украина, Одесская область	-	Урожай 2016 г.
26	Виноматериал ординарный сортовой крас- ный «Бастардо»	Столовый	Украина, Одесская область	-	Урожай 2016 г.
27	Виноматериал ординарный красный	Столовый	Украина, Одесская область	-	Урожай 2016 г.

Таблица А3 – Вина и виноматериалы, изготовленные зарубежными виноградно-винодельческими хозяйствами

№	Наименование	Тип вина	Регион происхождения	Изготовитель	Сорта винограда, из которых изготовлено вино/год урожая
1	2	3	4	5	6
1	Виноматериал красный «Каберне»	Столовый	Испания	-	Каберне / урожай 2016 г.
2	Виноматериал красный «Каберне»	Столовый	Италия, регион Альбачете	-	Каберне / урожай 2016 г.
3	Виноматериал красный «Мерло»	Столовый	Испания	-	Мерло / урожай 2016 г.
4	Виноматериал красный «Мерло»	Столовый	Италия, регион Альбачете	-	Мерло / урожай 2016 г.
5	Виноматериал красный «Каберне Совиньон»	Столовый	Италия, регион Гарнача	-	Каберне Совиньон / урожай 2016 г.
6	Виноматериал красный «Бастардо»	Столовый	Испания	-	Бастардо / урожай 2015 г.
7	Вино «Agradezco»	Столовое	Испания, регион Валенсия, Рекена	«Bodegas Murviedro S.A.»	Бобаль, Темпранильо
8	Вино «Carranc»	Столовое	Испания, регион Валенсия, Чива	«Cherubino Valsangiacomo S.A.»	-
9	Вино «San Valero»	ВЗМП	Испания, региона Кариньена	«S. Coop. San Bernabe»	Темпранильо, Гарнача
10	Вино «Castillo San Simon»	ВЗГУ	Испания, регион Хумилья	«BODEGAS 1890, S.A.»	Монастрель
11	Вино «Campo De La Mancha Tempranillo»	ВЗМП	Испания, регион Ла Манча	«Felix Solis Avantis, S.A.»	Темпранильо
12	Вино «Pluvium»	ВЗМП	Испания, регион Валенсия	«Vicente Gandia Pla, S.A.»	Бобаль и Каберне Совиньон / урожай 2015 г.

Продолжение таблицы А3

1	2	3	4	5	6
13	Вино «Мавруд 2012»	ВЗМП	Болгария, регион Пловдив	«Винзавод АД, Асеновград»	Мавруд / урожай 2012 г.
14	Вино «Мавруд Асенова Крепост 2013»	Столовое	Болгария, регион Тракийска низина	«Винзавод АД, Асеновград»	Мавруд / урожай 2012 г.
15	Вино «Menada»	ВЗГУ	Болгария, регион Тракийска низина	«Домейн Менада»	Мавруд / урожай 2015 г.
16	Вино «Cape Diamond Ruby Cabernet»	Столовое	ЮАР	«Cape Diamond Wines (PTY) LTD»	Каберне / урожай 2014 г.
17	Вино «Fielding»	Столовое	Канада, регион Niagara Peninsula	«Fielding wines Limited»	Каберне / урожай 2014 г.
18	Вино «Classic Cabernet Sauvignon»	Столовое	Бразилия	«Vinicola Salton S.A.»	Каберне Совиньон
19	Вино «Pergolaia»	ВЗГУ	Италия, регион Тоскана	«Societa Agricola Caiarossa sri»	Санджовезе, Мерло/урожай 2011 г.
20	Вино «L'ARCO»	ВЗМП	Италия, регион Кьянти, Тоскана	«L'arco Commerciale di Fanciullacci Simonettasas»	Санджовезе, Мерло/урожай 2014 г.
21	Вино «Campofiorin»	ВЗГУ	Италия, регион Венето	«Masi Agricola SPA»	Корвина, Рондинелла, Молинара/урожай 2011 г.
22	Вино «Rocarel»	Столовое	Франция, регион Бургундия	«Maison L. Tramier & Fils»	-
23	Вино «Les Chartrons Cotes de Bourg»	ВЗМП	Франция, регион Бордо	«Vignerons de Puisseguin Lussac Saint Emilion»	Мерло и Каберне Совиньон / урожай 2014 г.
24	Вино «Romantic»	Столовое	Франция	«Maison L. Tramier&Fils»	Пино нуар/урожай 2015 г.
25	Вино «Rotwein»	Столовое	Германия	«Wurttembergische Weingartner»	Пино нуар/урожай 2014 г.
26	Вино «Spatburgunder»	Столовое	Германия, регион Rheingau	«Villa Monrepos»	Урожай 2015 г.

Продолжение таблицы АЗ

1	2	3	4	5	6
27	Вино «Alvisa Five Continents. Malbec»	Столовое	Аргентина	ООО «Минераловодский завод виноградных вин»	Малбек
28	Вино «Château Pourcaud»	ВЗМП	Франция	«Saint-Avit-Saint-Nazaire. Château Pourcaud»	Мерло/урожай 2015 г.
29	Виноматериал красный «Каберне»	Столовый	Испания, регион Валенсия	«Ecovitis S.L. Pol. Ind. El Romeral C2 46340 Re Quena»	Каберне Совиньон / урожай 2016 г.
30	Вино «HD»	Столовое	КНДР, регион Huailai County, Hebei Province	«Beijing Dragon Seal Wines Co., Ltd»	Каберне Совиньон и Гаме/урожай 2016 г.
31	Вино «Kirmizi Sek Sarap»	Столовое	Турция	«Deva Sarapcilik»	Шираз/урожай 2016 г.
32	Вино «Svatovavrinecke»	Столовое	Чехия, регион Моравия	«Habanske Sklepy»	Урожай 2015 г.
33	Виноматериал красный	Столовый	Испания	«Cherubino Valsangiacomo S.A.»	-
34	Виноматериал красный «Каберне»	Столовый	Испания	-	Урожай 2016 г.
35	Виноматериал красный «Каберне»	Столовый	Италия	-	Урожай 2016 г.

ПРИЛОЖЕНИЕ Б



УТВЕРЖДАЮ

Директор департамента

пищевых производств

ООО «Городской супермаркет»

Д.В. Козыра

« 13.01.2017 » 2017 г.

Акт внедрения

результатов научно-исследовательской работы М.А. Зениной на тему:

«Разработка параметрической системы для оценки качества натуральных красных вин с учетом аспектов их географического происхождения»

Настоящим актом подтверждается, что результаты работы по разработке параметрической системы для оценки качества красных вин с учетом аспектов их географического происхождения выполненной аспирантом кафедры Технологии броидильных производств и виноделия ФГБОУ ВО «МГУПП» М.А. Зениной, научный руководитель д.т.н., к.б.н. А.Ю. Колеснов (РУДН) проведенной в срок с 10.01.2017 г. по 31.12.2017 г.

внедрены в систему производственного контроля качества и безопасности продукции Лаборатории производственно-технологического контроля компании ООО "Городской супермаркет" (г. Москва)

1. Вид внедренных результатов:

- параметрическая система контроля качества (подлинности) винодельческой продукции, основанная на технoхимических, биохимических и масс-спектрометрических методах анализа
- контроль географического происхождения вина при использовании разработанной системы

2. Характеристика масштаба внедрения: проведен контроль винодельческой продукции по разработанной системе в Лаборатории ООО «Городской супермаркет» (г. Москва) в количестве: 85 торговых марок импортных вин, произведенных в Испании, Германии, Франции, ЮАР, Чили, Аргентины и др., 67 торговых марок отечественных вин, произведенных из винограда, в т.ч. автохтонных сортов, выращенных в винодельческих регионах Российской Федерации

3. Форма внедрения, методика: Акт внедрения

4. Новизна результатов НИР: разработана система контроля качества вин на основе современной методологии масс-спектрометрии отношений стабильных изотопов легких элементов IRMS/SIRA; впервые получены результаты по биологическому фракционированию стабильных изотопов в компонентах растений C₃-пути фотосинтеза – винограде красных и белых сортов, произрастающего в различных климатических условиях на территории Российской Федерации; разработаны методы для выделения и очистки компонентов из винограда, виноматериалов и вина; впервые в РФ проведены исследования целевых компонентов вина, производимых в различных регионах мира

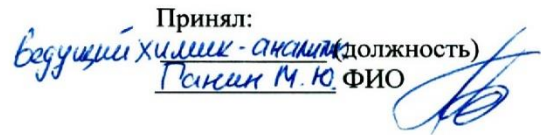
5. Социальный и научно-технический эффект: использование разработанной системы контроля качества винодельческой продукции, основанной на внедренных методах исследования, позволило: снизить объем продукции, не соответствующей заявленному типу, наименованию и региону происхождения на 5 %; выявить недобросовестных производителей и поставщиков, вследствие чего снизить риски употребления населением фальсифицированной винодельческой продукции; снизить количество поступающих рекламаций на покупаемую винодельческую продукцию на 3 %; получить прикладные научные знания об особенностях биологического фракционирования изотопов легких элементов в винограде, произрастающем в ведущих винодельческих регионах России и продуктах его переработки для практического применения в производственно-коммерческой деятельности компании.

Сдал:

Руководитель лаборатории
фундаментальных и прикладных
исследований качества и технологий
пищевых продуктов (ПНИЛ)
ЦКП (НОЦ) РУДН, д.т.н., к.б.н.

 А.Ю. Колеснов

Принял:

 Генкин М.Ю. ФИО

Исполнитель:

Аспирант кафедры Технологии
броидильных производств и виноделия
ФГБОУ ВО «МГУПП»

 М.А. Зенина

ПРИЛОЖЕНИЕ В

УТВЕРЖДАЮ

Директор Центра коллективного пользования
(Научно-образовательного центра) ФГАОУ ВО РУДН



д-р фарм. наук, доцент
И.А. Абрамович
_____ 2018 г.

АКТ

**о внедрении результатов
диссертационной работы М.А. Зениной
«Разработка системы оценки качества вин с учетом аспектов их
географического происхождения на основе метода масс-спектрометрии
стабильных изотопов легких элементов» в научно-исследовательскую и
образовательную деятельность**

Результаты диссертационной работы Зениной Маргариты Анатольевны «Разработка системы оценки качества вин с учетом аспектов их географического происхождения на основе метода масс-спектрометрии стабильных изотопов легких элементов» внедрены в практику научно-исследовательской деятельности Лаборатории фундаментальных и прикладных исследований качества и технологий пищевых продуктов (ПНИЛ) Центра коллективного пользования (Научно-образовательного центра) федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов» (ФГАОУ ВО РУДН). Разработанная система (алгоритм) оценки качества винодельческой продукции на основе масс-спектрометрии отношений стабильных изотопов легких элементов, методы масс-спектрометрического исследования компонентного состава и научные знания, полученные в ходе выполнения диссертационной работы, в настоящее время используются для теоретической и практической подготовки в процессе обучения магистров и аспирантов в Центре коллективного пользования (Научно-образовательном центре) ФГАОУ ВО РУДН.

Директор Центра контроля качества лекарственных
средств ЦКП (НОЦ) ФГАОУ ВО РУДН,
проф., д-р фарм. наук

О.О. Новиков

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

УТВЕРЖДАЮ

И.о. проректора
по научной работе

ФГБОУ ВО «МГУПП»

д-р хим. наук, профессор

Ю.В. Бабин

2019 г.



АКТ

**о внедрении результатов
диссертационной работы М.А. Зениной
«Разработка системы оценки качества вин с учетом аспектов их
географического происхождения на основе метода масс-спектрометрии
стабильных изотопов легких элементов» в образовательную
деятельность**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет пищевых производств» (ФГБОУ ВО «МГУПП») подтверждает, что полученные результаты - разработанная система (алгоритм) оценки качества винодельческой продукции на основе метода масс-спектрометрии стабильных изотопов легких элементов и научные знания, лежащие в ее основе, в настоящее время используются для теоретической и практической подготовки в процессе обучения бакалавров, магистров и аспирантов по дисциплинам, связанных с изучением систем оценок основных и специфических показателей компонентного состава винодельческой продукции с помощью современных методов анализа на кафедре Технологии броидильных производств и виноделия ФГБОУ ВО «МГУПП».

Заведующая кафедрой,
проф., д-р техн. наук

М.В. Гернет